Laboratorio de Ingeniería de Zeolitas
Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales
Universidad de La Habana

Laboratoire des Agrégats, Interfaces, et Matériaux pour l'Energie, Institut Charles Gerhardt Montpellier, Université Montpellier 2
Place Eugène Bataillon
34095 Montpellier cedex 05

Materiales Compuestos Zeolita-Surfactante-Fármaco con Uso Potencial en la Industria Farmacéutica

Tesis presentada en opción al Grado Científico
de Doctor en Ciencias Químicas

Autor: MSc. Tania Farías Piñeira

Tutores: Dra. Aramis Rivera Denis
Dr. Louis Charles de Ménorval
Dr. Jerzy Zajac

Ciudad de La Habana
2010

A mi mamá, por su apoyo constante

A mi esposo, por estar siempre

A mi hija, por ser la luz de mi vida

Agradecimientos

Comienzo agradeciendo a mis tutores Aramis Rivera, Louis Charles de Ménorval y Jerzy Zajac, por su apoyo y colaboración, y por todo el tiempo que me han dedicado. En especial le agradezco a Aramis, que confiara en mí desde que comenzó a tutorear mi tesis de licenciatura, y que además de ser una excelente tutora se convirtió en una buena amiga.

A todos los integrantes del antiguo Laboratorio de Ingeniería de Zeolitas, los que están y los que ya no están por diferentes razones, les agradezco la ayuda que me han brindado durante todos estos años, en particular por los consejos durante la discusión de los resultados, y por compartir los buenos y malos momentos. En especial tengo que agradecer a Omitzu, porque si no lo hago se molestará mucho.

A los oponentes de la predefensa, los profesores Aimée Arias-Carbajal y Néstor Fernández, por sus excelentes críticas y comentarios que resultaron en una mejora del manuscrito final.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, por el apoyo durante estos años en los que he llevado a cabo los estudios de doctorado. Le agradezco en particular a Beatriz por su ayuda en los asuntos y trámites burocráticos, que no fueron pocos.

A los integrantes del Laboratorio de Agregados Moleculares y Materiales Inorgánicos de la Universidad de Montpellier II, por abrirme sus puertas y por la ayuda durante los diferentes experimentos desarrollados allá. Así como también, por brindarme sus conocimientos sobre surfactantes, lo cual constituía una temática nueva para mí. Agradezco también al Polo Universitario de Montpellier por el financiamiento para mis estancias de investigación.

A Marie Christine, por acogerme como a una hija y hacer de mis estancias en Francia momentos placenteros, además, y no menos importante, le agradezco por enseñarme lo que sé de francés.

A los colegas del laboratorio de análisis químico, Manolo, Boza, Sheila y Odalis por los consejos y la ayuda con la Absorción atómica.

A mi familia le agradezco el apoyo constante, por estar siempre en la retaguardia para que yo pudiera avanzar en el trabajo. En especial a mi mamá, a mi esposo y a mi hermana Dania. A mi papá le doy las gracias además por su ayuda en la encuadernación del manuscrito final.

A todos mis amigos por acompañarme en los malos momentos y darle el aliento y la fuerza necesarios para seguir adelante. Y no menos importante, por soportar mi mal carácter y comprenderme cuando las cosas no iban bien.

SÍNTESIS

Sobre la base de sus propiedades, estabilidad en ambientes biológicos y comprobada inocuidad al organismo humano, la zeolita natural clinoptilolita se ha usado satisfactoriamente en aplicaciones biomédicas. A partir de la clinoptilolita natural del yacimiento Tasajeras (Cuba), NZ, se han preparado principios activos para el tratamiento de diferentes patologías.

En la presente tesis se estudian las interacciones surfactante-fármaco, y se desarrollan y caracterizan materiales compuestos NZ-surfactante y NZ-surfactante-fármaco, con uso potencial en la industria farmacéutica como soportes de medicamentos. En el trabajo se empleó la formulación de surfactante catiónico cloruro de benzalconio (CB), así como los homólogos con diferente largo de cadena que componen su mezcla (CB12, CB14 y CB16), y los fármacos modelos, sulfametoxazol y metronidazol.

Los estudios de interacción entre los surfactantes y los fármacos modelos permitieron conocer que la molécula menos polar, sulfametoxazol, a diferencia del metronidazol, afecta el proceso de micelización de los tres surfactantes estudiados, indicando que es solubilizada por los mismos. Tal efecto es dependiente de la concentración del sulfametoxazol y del largo de la cadena del surfactante. Los resultados indicaron que el sulfametoxazol se ubica en la región centro exterior de la micela, y que la micelización del CB12, tanto en ausencia como en presencia de sulfametoxazol, es un proceso exotérmico, regido por el aumento de entropía del sistema.

Los estudios de adsorción evidenciaron la gran afinidad de los surfactantes por la superficie cargada negativamente de NZ y sus formas modificadas. Se demostró que la adsorción de los diferentes homólogos en NZ depende del largo de la cadena hidrocarbonada, y se constató que NZ puede ser usada sin modificación adicional para la adsorción de surfactantes catiónicos.

Se demostró que la adsorción de CB o CB12 en NZ es indispensable para la co-adsorción de fármacos poco polares, como el sulfametoxazol. Sin embargo, la adsorción de metronidazol parece ser independiente de la presencia del surfactante catiónico.

El estudio de la influencia de diversos factores físico-químicos en la adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ permitió conocer que la misma depende del tiempo, la temperatura, la fuerza iónica y el pH del medio; y sugirió que la adsorción de CB en NZ ocurre a través de un proceso de intercambio iónico.

La caracterización de los materiales compuestos confirmó la presencia de CB y sulfametoxazol en los mismos, así como la estabilidad estructural de NZ frente a los tratamientos efectuados. El estudio preliminar de liberación de sulfametoxazol demostró que el material compuesto NZ-CB puede ser empleado como soporte de fármacos, con uso potencial en la preparación de sistemas de liberación.

Glosario de los principales símbolos utilizados en la tesis

NZ	Clinoptilolita natural purificada
NZ-Na	NZ sometida a intercambio iónico con disoluciones de cloruro de sodio
NZ-Ca	NZ sometida a intercambio iónico con disoluciones de cloruro de calcio
NZ-K	NZ sometida a intercambio iónico con disoluciones de cloruro de potasio
NZH-0.1	NZ sometida a tratamiento ácido con HCl de concentración 0.1 mmol L^{-1}
NZH-0.1-lav	NZH-0.1 después de procesos de lavado con agua destilada
NZH-0.5	NZ sometida a tratamiento ácido con HCl de concentración 0.5 mmol L^{-1}
NZH-0.5-lav	NZH-0.5 después de procesos de lavado con agua destilada
NZH-1	NZ sometida a tratamiento ácido con HCl de concentración 1 mmol L^{-1}
NZH-1-lav	NZH-1 después de procesos de lavado con agua destilada
NZOH-0.1-lav	NZ sometida a tratamiento básico con NaOH de concentración 0.1 mmol L^{-1} y procesos de lavado con agua destilada
NZOH-0.5-lav	NZ sometida a tratamiento básico con NaOH de concentración 0.5 mmol L^{-1} y procesos de lavado con agua destilada
NZOH-1-lav	NZ sometida a tratamiento básico con NaOH de concentración 1 mmol L^{-1} y procesos de lavado con agua destilada
CB	Cloruro de benzalconio (mezcla de cloruros de alquildimetilbencilamonio)
CB12	Cloruro de dodecildimetilbencilamonio
CB14	Cloruro de tetradecildimetilbencilamonio
CB16	Cloruro de hexadecildimetilbencilamonio
NZ-CB	NZ modificada por la adsorción de cloruro de benzalconio
NZ-CB-S y NZ-CB-S1	NZ modificada por la adsorción de cloruro de benzalconio y sulfametoxazol con diferentes cantidades de fármaco adsorbido

Índice

		Pág.
Introducción		1
Capítulo 1: Revisión bibliográfica		4
1.1	Zeolitas: características y propiedades fundamentales	4
1.1.1	Clinoptilolita natural: estructura y propiedades	7
1.1.2	Zeolitas naturales: aplicaciones biomédicas	9
1.1.3	Usos farmacéuticos de la clinoptilolita natural NZ	10
1.2	Surfactantes: generalidades	11
1.2.1	Solubilización en agregados de surfactantes	14
1.2.2	Adsorción de surfactantes en sólidos	16
1.2.3	Solubilización en agregados de surfactante adsorbido: adsolubilización	19
1.3	Medicamentos genéricos: metronidazol y sulfametoxazol	20
1.4	Materiales compuestos zeolita-surfactante-fármaco	22
Capítulo 2: Materiales y métodos		23
2.1	Surfactantes y fármacos empleados	23
2.2	Estudio de procesos de micelización de surfactantes y solubilización de fármacos	23
2.3	Clinoptilolita natural purificada (NZ)	27
2.3.1	Obtención de las formas modificadas de NZ	28
2.4	Estudios de adsorción de surfactantes y fármacos en los materiales zeolíticos	29
2.5	Estudio de la influencia de diferentes parámetros en la adsorción de cloruro de benzalconio y sulfametoxazol sobre NZ	30
2.6	Ensayos de liberación de sulfametoxazol	31
2.7	Técnicas de análisis empleadas en la caracterización de las muestras objeto de estudio	31
2.7.1	Técnicas utilizadas en el estudio de NZ y sus formas modificadas	31
2.7.2	Técnicas empleadas en el estudio de los materiales compuestos NZ-surfactante y NZ-surfactante-fármaco	32
Capítulo 3: Estudio de los procesos de micelización de surfactantes		34
3.1	Introducción	34
3.2	Cloruro de benzalconio: composición y concentración micelar crítica	34
3.3	Micelización de homólogos puros y solubilización de fármacos	36
3.3.1	Conductividad específica	36
3.3.2	Resonancia magnética nuclear del protón	43
3.3.3	Microcalorimetría de titulación isotérmica	57
3.4	Conclusiones del capítulo	59
Capítulo 4: Adsorción de surfactantes y fármacos en zeolitas modificadas		61
4.1	Introducción	61
4.2	Adsorción de surfactantes en muestras zeolíticas	61

4.2.1 Influencia del largo de la cadena hidrocarbonada 61
4.2.2 Influencia del catión intercambiado en NZ 64
4.2.3 Influencia de tratamientos ácidos y básicos 65
4.2.3.1 Caracterización de las muestras ácidas y básicas 66
4.2.3.2 Adsorción de CB en las muestras ácidas y básicas 72
4.3 Adsolubilización de fármacos en NZ 73
4.4 Conclusiones del capítulo 77

Capítulo 5: Materiales compuestos NZ-surfactante y NZ-surfactante-fármaco 78

5.1 Introducción 78
5.2 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: influencia de diferentes factores 78
5.2.1 Cinética de adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ 78
5.2.2 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: influencia de la fuerza iónica 82
5.2.3 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: efecto de la temperatura 83
5.2.4 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: influencia del pH del medio 84
5.3 Caracterización de los materiales compuestos zeolita-surfactante y zeolita-surfactante-fármaco 86
5.4 Ensayos preliminares de la liberación de sulfametoxazol 92
5.5 Conclusiones del capítulo 93

Conclusiones generales 94

Recomendaciones 96

Referencias 97

Anexos 104
A1 Anexo A de la Norma Cubana NC 625: 2008. Zeolitas Naturales – Requisitos, publicada por la Oficina nacional de Normalización 104
A2: Fundamento teórico de la determinación de la concentración micelar crítica y el grado de ionización a partir de mediciones de conductividad específica en función de la concentración de surfactante 106
A3 Dependencia de la concentración micelar crítica con el largo de la cadena hidrocarbonada del surfactante 108
A4 Espectros RMN ^{1}H de disoluciones de CB12 a diferentes concentraciones 109
A5 Espectros RMN ^{1}H de disoluciones del surfactante CB14 111
A6 Desplazamientos químicos de los protones del CB14 en función de la concentración de sulfametoxazol 112
A7 Espectros RMN ^{1}H de disoluciones mixtas de CB12 y sulfametoxazol 113
A8 Patrones de difracción de rayos X de las muestras de NZ enriquecidas en los diferentes cationes 114
A9 Contenidos de silicio y aluminio en NZ y las muestras sometidas a tratamientos ácidos y básicos 115
A10 Listado de las publicaciones y participación en eventos de la autora, y proyectos de investigación, relacionados con la tesis 116

La ciencia de materiales de hoy en día se desarrolla en buena medida sobre la base de una armoniosa combinación entre la química inorgánica y la orgánica, mediante el empleo de herramientas tanto experimentales como teóricas, con el objetivo de desarrollar nuevos materiales con mejoras en sus propiedades. En los últimos años, las zeolitas y materiales similares, han atraído la atención de la comunidad científica, debido a sus conocidas y variadas aplicaciones en diversas ramas, incluyendo su uso como precursores en la síntesis de nuevos materiales micro-mesoporosos. En particular, las zeolitas naturales resaltan por su uso en medicina, junto con su bajo costo, y sobre todo por sus muy excepcionales propiedades físicas y químicas.

Las zeolitas naturales, y en particular la clinoptilolita, han sido empleadas desde hace algo más de dos décadas en diferentes aplicaciones biomédicas [1], sobre la base de sus propiedades y su adecuada estabilidad químico-física en ambientes biológicos [2]. El intercambio iónico, la adsorción y la catálisis, son mecanismos que con frecuencia están presentes en los procesos bioquímicos, así que no es de extrañar el uso exitoso de las zeolitas en medicina. Debe destacarse, el uso efectivo de la clinoptilolita natural en la terapia anti-cáncer [3,4].

En Cuba se cuenta con varios yacimientos de zeolitas, por lo que la elaboración de principios activos a partir de estos abundantes materiales naturales constituye una temática verdaderamente atractiva. Se ha demostrado que la clinoptilolita natural purificada, NZ, del yacimiento Tasajeras (Cuba), es inocua al organismo humano [5], estable en ambientes biológicos [6], y cuenta con la aprobación para ser utilizada en la industria farmacéutica [7]. Las propiedades adsortivas y de intercambio iónico de esta zeolita han permitido su empleo como producto activo en el tratamiento de diferentes patologías [8-15].

El uso de zeolitas naturales hidrofílicas, modificadas previamente con surfactante, ha posibilitado el empleo de estos materiales como co-adsorbentes de moléculas orgánicas poco polares en aplicaciones medio ambientales [16,17] y farmacéuticas [18-21]. De estudios previos se conoce que la apropiada modificación de NZ con surfactantes catiónicos, garantiza la adsorción de fármacos poco polares, lo que conllevó a una nueva aplicación potencial de esta zeolita como sistema soporte de moléculas orgánicas de interés farmacéutico [20]. En este sentido, es importante notar que son

escasos los reportes en la literatura sobre el empleo de materiales porosos, en particular zeolitas, como soportes de fármacos [19,22,23].

Los antecedentes mencionados constituyen una base sólida para la preparación de materiales zeolíticos compuestos de origen natural –NZ-surfactante-fármaco–, como soportes farmacéuticos potenciales. Para tal propósito, se precisa de estudios químico-físicos que conlleven a una caracterización estructural detallada del material a utilizar. En tal sentido, el conocimiento de la naturaleza de las interacciones surfactante/fármaco, NZ/surfactante, y NZ/surfactante/fármaco, permite conocer en qué condiciones y para cuáles fármacos en particular los sistemas NZ-surfactante son soportes convenientes.

Hipótesis de trabajo: el conocimiento de las propiedades y características de la clinoptilolita natural del yacimiento Tasajeras ante modificaciones que involucran surfactantes y fármacos, así como las interacciones que priman entre ellos, permitirá desarrollar materiales compuestos con potencial aplicación en la industria farmacéutica.

El **objetivo general** del trabajo es: caracterizar los procesos de solubilización de fármacos en surfactantes, de adsorción de surfactantes y co-adsorción de fármacos en la clinoptilolita natural y en formas modificadas de la misma, así como también los materiales resultantes con usos potenciales como soportes de medicamentos.

Para dar cumplimiento al objetivo general de la tesis fue necesario plantear los siguientes **objetivos específicos**:

1. Determinar los parámetros relacionados con los procesos de micelización de surfactantes en medio acuoso, en ausencia y en presencia de fármacos, mediante el empleo de diferentes técnicas de análisis.
2. Determinar la capacidad de adsorción de surfactantes en la clinoptilolita natural purificada NZ, y formas modificadas de esta zeolita.
3. Estudiar la co-adsorción de los fármacos modelos, sulfametoxazol y metronidazol, en NZ en presencia de surfactante.
4. Evaluar la influencia de factores químicos y físicos en la adsorción del surfactante cloruro de benzalconio y el fármaco modelo sulfametoxazol en NZ.
5. Caracterizar los materiales zeolita-surfactante y zeolita-surfactante-fármaco.

La **novedad científica** del trabajo radica en: 1) Haber contribuido a un mejor entendimiento de los fenómenos de solubilización de dos fármacos modelos, sulfametoxazol y metronidazol, en micelas de los surfactantes puros que componen la mezcla de la formulación cloruro de benzalconio. 2) Haber contribuido a una mejor comprensión de los procesos de adsorción de surfactantes y co-adsorción de fármacos en la clinoptilolita natural purificada, NZ, y formas modificadas de esta zeolita. 3) Haber demostrado la influencia de factores químicos y físicos en la adsorción de cloruro de benzalconio y sulfametoxazol en NZ, así como el mecanismo mediante el cual tiene lugar la adsorción del surfactante en la zeolita. 4) Haber desarrollado nuevos materiales compuestos NZ-surfactante y NZ-surfactante-fármaco, con potenciales aplicaciones en la industria farmacéutica.

El documento que aquí se presenta es el fruto de cuatro años de trabajo, realizado fundamentalmente en el Laboratorio de Zeolitas del Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales, perteneciente a la Universidad de la Habana. Este trabajo forma parte del proyecto de doctorado en co-tutela "*Caracterización y Desarrollo de Materiales Porosos Tipo Zeolita Clinoptilolita con Potenciales Aplicaciones en la Industria Farmacéutica*", ejecutado por el Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales y el Laboratorio de Agregados Superficiales y Materiales para la Energía, de la Universidad de Montpellier II, Francia.

El trabajo de investigación de la presente tesis es el resultado de la publicación de artículos en revistas especializadas, la presentación de trabajos en eventos científicos, y de proyectos de investigación relacionados con la temática (ver Anexo A10).

1.1 Zeolitas: características y propiedades fundamentales

Las zeolitas han sido estudiadas por más de 250 años. Su historia comenzó con el descubrimiento de la estilbita en el año 1756, por el mineralogista griego A. F. Cronstedt [24]. En la actualidad se conocen más de 40 tipos de zeolitas naturales y se han reportado más de 150 zeolitas sintéticas [25]. Las zeolitas poseen excelentes propiedades como intercambiadores iónicos, adsorbentes, tamices moleculares y catalizadores, por lo que estos materiales han sido ampliamente utilizados en diferentes ramas de la industria, la agricultura, el medio ambiente y la química fina, entre otras [24,26,27]. Estas propiedades guardan estrecha relación con su estructura cristalina, de ahí la importancia de conocerlas para así poder realizar modificaciones apropiadas en función de la aplicación deseada.

Con el transcurso de los años la definición de zeolita ha evolucionado, considerándose la más completa, la propuesta por la Asociación Internacional de Zeolitas (IZA, del inglés "International Zeolite Association") que plantea: "*Una zeolita está caracterizada por una estructura de tetraedros enlazados que contienen cavidades en forma de canales y cajas que comúnmente están ocupadas por moléculas de agua y cationes. La estructura puede estar interrumpida por grupos (OH, F) que ocupan los vértices de los tetraedros, los cuales no son compartidos con tetraedros adyacentes. Los canales son lo suficientemente grandes para permitir el paso de especies huéspedes. En las fases hidratadas ocurre la deshidratación a temperaturas moderadas (< 400 ^{o}C), y ésta es ampliamente reversible"* [28]. Como puede notarse, esta definición no hace referencia a la naturaleza química, lo que permite que se clasifiquen como zeolitas materiales con una amplia variedad en su composición.

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos, con una estructura de enrejado tridimensional que forma poros y canales de tamaño uniforme y de dimensiones moleculares, lo que le confiere propiedades como tamices moleculares. Las zeolitas tradicionales son tectosilicatos, que se caracterizan por un andamiaje de tetraedros de SiO_4^{4-} donde cada oxígeno se comparte entre dos tetraedros, lo cual reduce la relación global de O/Si a 2:1. Si cada tetraedro contiene silicio como átomo central, la estructura es eléctricamente neutra, como es el caso de la silicalita [29]. Sin embargo, algunos de los silicios tetravalentes pueden ser reemplazados por átomos trivalentes como el aluminio, dando como resultado una deficiencia de carga positiva en el enrejado, o lo que es lo mismo, una densidad de carga negativa en exceso. Esta carga es compensada principalmente por

cationes de metales alcalinos y alcalinotérreos, los cuales se unen a los oxígenos estructurales a través de enlaces iónicos, y se estabilizan ayudados por moléculas de agua que completan su esfera de coordinación. Estos cationes tienen una alta movilidad, lo que permite su participación en reacciones de intercambio iónico. Los átomos centrales, denominados átomos T, pueden ser también P, Ga, Ge, Be, y Fe, entre otros [30].

Las zeolitas se diferencian del resto de los tectosilicatos por su densidad. Los minerales zeolíticos, dadas sus características microporosas, poseen una densidad menor (ρ = 2.0 - 2.2 g/cm^3) que las estructuras del cuarzo y feldespatos que son relativamente densas y de empaquetamiento compacto (ρ = 2.6 - 2.7 g/cm^3) [31].

Los tetraedros TO_4, constituyen la unidad primaria de construcción del enrejado cristalino de una zeolita. La unión simple de tetraedros o unidades primarias de construcción da origen a las unidades secundarias de construcción (SBUs, del inglés "secondary building units"), que van desde anillos simples de 4 ó 6 tetraedros a cubo octaedros o cajas sodalíticas (figura 1.1). Las SBUs se combinan a su vez entre ellas de varias formas, para originar un gran número de estructuras cristalinas tridimensionales, con propiedades físicas y químicas bien diferentes unas de otras [24,32,33]. En la actualidad, la Comisión de Estructura de la IZA reconoce 191 tipos diferentes de enrejados zeolíticos [34].

A partir de las SBUs, Breck propuso una clasificación estructural de las zeolitas [24]. Cada uno de los siete grupos viene caracterizado por una SBU particular que conforma la estructura cristalina, o sea, dentro de cada grupo las zeolitas tienen una sub-unidad común de estructura. En los últimos años, sin embargo, se han sintetizado varias estructuras zeolíticas que no corresponden a ninguno de estos grupos.

Las cavidades y canales de las estructuras zeolíticas se crean cuando se ensamblan las SBUs. Se pueden identificar tres tipos de sistemas de canales: unidimensionales, bidimensionales y tridimensionales [33]. La entrada al sistema de canales está limitada por la distancia máxima entre los átomos de oxígeno de los tetraedros conectados, que conforman un anillo o ventana. El tamaño del anillo depende del número y orientación de los átomos de oxígeno. Considerando el diámetro de poro (θ) y el número de átomos de oxígeno que forman los anillos, las zeolitas pueden clasificarse en zeolitas de poro extragrande, grande, mediano y pequeño, como aparece en la tabla 1.1 [33].



Figura 1.1 Unidades secundarias de construcción. Los círculos representan a los átomos T, y los átomos de oxígeno se encuentran aproximadamente en el centro de las líneas de conexión. Tomada de la referencia [33].

Tabla 1.1 Clasificación de las zeolitas atendiendo al diámetro de poro.

Clasificación	**Diámetro de poro**	**Átomos de oxígeno**	**Ejemplos**
poro extra grande	$\theta > 9$Å	≥ 14	VPI
poro grande	6Å $< \theta <$ 9Å	12	$AlPO_4$-11
poro mediano	5Å $< \theta <$ 6Å	10	ZSM-5
poro pequeño	3Å $< \theta <$ 5Å	≤ 8	Analcita

Debido a las dimensiones finitas de los cristalitos de zeolita, la continuidad de los enlaces del interior del material se trunca en la superficie. Como consecuencia, se crean defectos que generalmente se manifiestan en terminaciones del tipo −OH sobre los átomos tetraédricos, y en variaciones en la concentración de los cationes de compensación. Ambos tipos de defectos cumplen con el papel de mantener la electroneutralidad del material [24]. Es importante mencionar que estos grupos −OH muestran una ligera acidez, a la vez que apenas participan muy discretamente en el intercambio iónico. Además, pueden contribuir a la adsorción de moléculas huéspedes por medio de enlaces por puentes de hidrógeno [24].

Como se mencionó anteriormente, las propiedades de las zeolitas guardan estrecha relación con su estructura cristalina. Por ejemplo, las características adsortivas de las mismas dependen del tamaño de las aberturas y del volumen de los poros. La selectividad en el intercambio iónico depende del número y naturaleza de los sitios catiónicos, así como de su accesibilidad. El comportamiento catalítico depende de las dimensiones de los poros, el tipo de sistema de canales, los sitios catiónicos y el espacio disponible para la reacción. Es por ello que el análisis estructural es un aspecto fundamental en la ciencia de zeolitas. La información sobre el tipo de enrejado permite dilucidar muchas de las propiedades observables de una zeolita. El tipo de enrejado, que describe la topología de los átomos tetraédricos en la simetría más favorable sin hacer referencia a la composición química, define el tamaño y forma de los poros, la dimensionalidad del sistema de canales, el volumen y arreglo de las cajas y cavidades, y los tipos de sitios catiónicos disponibles. Sin embargo, la composición química del enrejado, la naturaleza de las especies dentro de los canales y el tipo de modificación post-síntesis (para el caso de zeolitas sintéticas), juegan también un papel importante en la determinación de las propiedades específicas de un material zeolítico en particular. Por ejemplo, un enrejado de aluminosilicato tiene carga negativa, mientras que un aluminofosfato es neutro, un catión grande puede bloquear o reducir el tamaño efectivo de apertura de poro, o una especie adsorbida puede influenciar las propiedades catalíticas, ópticas, magnéticas o electrónicas de una zeolita [35]. Por lo general, varias técnicas analíticas son necesarias para estudiar la estructura de una zeolita. Estas incluyen, experimentos de adsorción, resonancia magnética nuclear de estado sólido, microscopía electrónica, y difracción de rayos X, entre otros.

1.1.1 Clinoptilolita natural: estructura y propiedades

La clinoptilolita es la zeolita natural de mayor abundancia a nivel mundial. En Cuba existen varios yacimientos de este mineral, entre los que destaca el de Tasajeras, en la provincia de Villa Clara.

Esta zeolita pertenece al grupo estructural 7, de la familia de la heulandita, según la clasificación de Breck. La clinoptilolita y la heulandita poseen estructuras cristalinas muy similares, con idénticas topologías del enrejado, por lo que son indistinguibles por difracción de rayos X. En la actualidad el criterio más importante para diferenciarlas es su relación Si/Al. La Asociación Internacional de Zeolitas Naturales ha definido que si la relación Si/Al es mayor que 4.0 la zeolita es una clinoptilolita, y si es menor, es una heulandita [36]. Antiguamente se empleaba como criterio para diferenciar a estas zeolitas su estabilidad frente a tratamientos térmicos [37]. La clinoptilolita es estable hasta alrededor de los 700 ^{o}C, mientras que en la heulandita se comienzan a observar cambios estructurales a partir de los 160 ^{o}C, y la estructura colapsa alrededor de los 300 ^{o}C. Sin embargo, este criterio de diferenciación conducía a menudo a confusiones, ya que la estabilidad térmica depende no sólo de la relación Si/Al, sino también de los cationes de compensación [38,39].

La clinoptilolita presenta tres tipos de canales interconectados en dos dimensiones. Los canales *a* y *b* formados por anillos de 10 y 8 miembros, respectivamente, corren paralelos al eje **c** de la estructura. El tercer canal, *c*, de 8 miembros, corre a lo largo del eje **a** de la estructura. Las dimensiones libres de los canales son aproximadamente de: $a \approx 7.5 \times 3.1$ Å, $b \approx 4.6 \times 3.6$ Å y $c \approx 4.7 \times 2.8$ Å [25].

En el trabajo de Koyama y Takéuchi [40] sobre el refinamiento de la estructura de la clinoptilolita, se reporta la ocupación preferencial de diferentes cationes por determinados sitios. El sitio C1, localizado en el canal *a*, es ocupado preferentemente por el catión Na^{+} y en menor medida por los cationes Ca^{2+} y K^{+}. El segundo sitio, C2, que se encuentra ubicado en el canal *b*, es ocupado fundamentalmente por Ca^{2+} y minoritariamente por Na^{+}. En el tercer sitio, C3, ubicado en el canal *c* y muy próximo al sitio C1, existe una preferencia absoluta por el catión K^{+}. Los autores plantean que la ocupación del sitio C3 impide la ocupación del sitio C1, y además encuentran un cuarto sitio catiónico, C4, situado en el centro del canal *a,* con alta preferencia por el catión Mg^{2+}.

En la figura 1.2 se representa la estructura de la clinoptilolita, mostrándose los canales *a* y *b* y la posición de los sitios catiónicos extra-enrejado. En la figura el canal *c* corre paralelo al plano de la imagen, atravesando los canales *a* y *b*.

Las principales características estructurales de la clinoptilolita se resumen a continuación [25,33]:

- Densidad estructural: 17.1 átomos T/1000 Å^3
- Grupo espacial: C 2/m
- Parámetros de la celda unidad: a = 17.718 Å, b = 17.897 Å, c ≈ 7.428 Å y β ≈ 116.42^{o}
- Relación Si/Al: 4.3 – 5.3

- Predominan los cationes: Na^+, Ca^{2+} y K^+
- Fórmula de la celda unidad: $(Na_2,Ca_1,K_2)\ [Al_6Si_{30}O_{72}] \cdot 24H_2O$

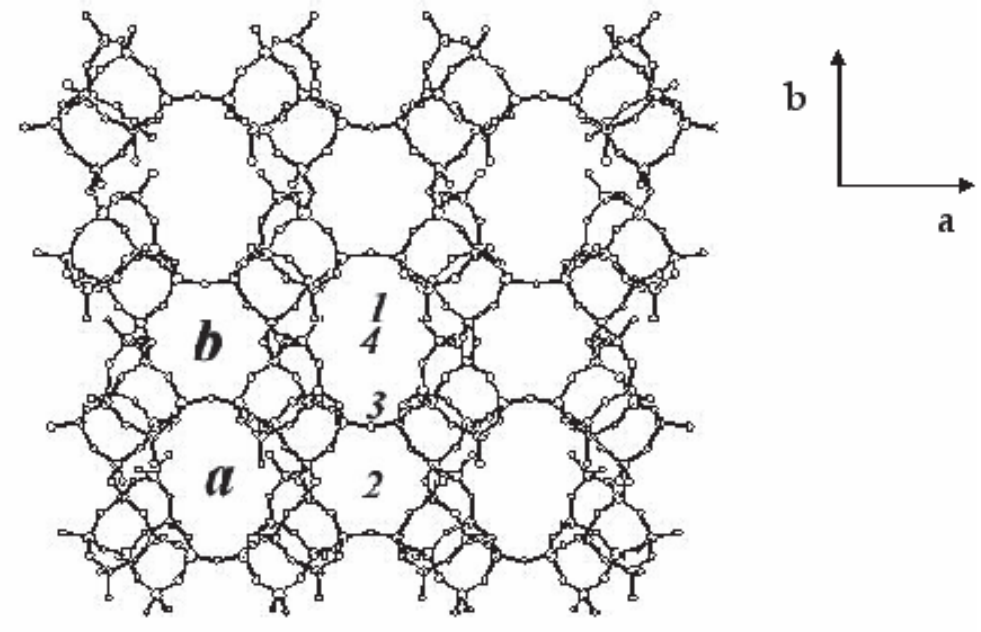


Figura 1.2 Vista a lo largo de la dirección [001] del enrejado de la clinoptilolita. Los círculos doblemente conectados representan átomos de oxígeno, mientras que los tetraédricos corresponden a átomos de Si y Al. En números se señalan los sitios catiónicos.

1.1.2 Zeolitas naturales: aplicaciones biomédicas

Las propiedades de intercambio iónico, adsorción y catálisis que presentan las zeolitas naturales, las convierten en materiales altamente atractivos para aplicaciones farmacéuticas. En la década de los 80 se comenzaron a utilizar estos materiales para el tratamiento de diferentes enfermedades en animales y humanos. La zeolita utilizada por excelencia para tales propósitos es la zeolita natural clinoptilolita, considerando su estabilidad frente a las condiciones ácidas del estómago [41] y su carácter inocuo [7]. En particular, se ha comprobado que esta zeolita no interfiere en la absorción de micro-nutrientes por el organismo [2].

Lo estudios con animales de experimentación han permitido demostrar la efectividad de la clinoptilolita natural en la eliminación de núcleos radioactivos, como por ejemplo: ^{90}Sr, ^{137}Cs, ^{60}Co, ^{45}Ca y ^{51}Cr [42]. Se ha comprobado que la incorporación de clinoptilolita en la dieta animal reduce el efecto negativo de las aflatoxinas [43,44] y contribuye a la ganancia de peso corporal [2,45,46]. Estudios *in vitro* demostraron las propiedades bactericidas de la zeolita en el control de infecciones del tracto urinario [15,47]. Zeolitas naturales y sintéticas se han empleado como filtros para la

remoción de NH_4^+ en procesos de hemodiálisis [48]. Los materiales zeolíticos han mostrado ser efectivos en el tratamiento del pie de atleta, de la úlcera curis y en la cicatrización de heridas e incisiones quirúrgicas [26]. Recientemente se ha reportado el uso efectivo de la clinoptilolita en la terapia anticáncer en animales de investigación, así como su mecanismo de acción [3,4]. Las zeolitas han sido empleadas también en la purificación de anticuerpos y proteínas [49,50], y en la eliminación de preservantes tóxicos en formulaciones farmacéuticas [51], entre otras. Igualmente, algunos estudios reportan una aplicación novedosa de estos materiales, la preparación de sistemas de liberación controlada de medicamentos [18-20,52].

Debe destacarse que no todas las zeolitas naturales pueden ser utilizadas en animales o humanos, y un ejemplo de esto es el caso de la Erionita. Esta zeolita pertenece a la familia de las zeolitas fibrosas, las cuales se caracterizan por ocasionar severos daños [53]. La comisión de zeolitas naturales de la IZA declaró que esta zeolita no debe ser usada para ningún propósito, si no están totalmente controlados su exposición y manejo [54], pues se ha comprobado su potente patogenicidad, superior a la de los asbestos [55].

1.1.3 Usos farmacéuticos de la clinoptilolita natural NZ

La clinoptilolita natural purificada, NZ, proveniente del yacimiento Tasajeras en la provincia de Villa Clara, muestra una adecuada estabilidad estructural en condiciones similares a las existentes en el tracto gastrointestinal [6]. Los estudios de toxicidad subcrónica de esta zeolita demostraron que la ingestión prolongada de la misma no causa efectos tóxicos o daños biológicos en los animales de experimentación, bajo las condiciones empleadas [5]. El estudio permitió concluir que NZ cumple con los requisitos de la Norma Cubana NC 625, para su utilización como materia prima en la industria médico-farmacéutica [7] (ver Anexo A1).

Teniendo en cuenta lo antes expuesto, y las propiedades físico-químicas de NZ, en Cuba se han elaborado diferentes principios activos basados en esta zeolita, y en formas modificadas de la misma, para el tratamiento de diferentes enfermedades. En su forma natural NZ se ha empleado como antiácido y antidiarreico [8,10,56]. También se ha demostrado su propiedad microbicida cuando es intercambiada con cationes Zn^{2+} y Ag^+ [57,58]. La clinoptilolita intercambiada con Fe^{2+} es un adsorbente selectivo de glucosa [59], los estudios *in vivo* con animales de experimentación mostraron el efecto antihiperglicemiante de este material [60]. NZ modificada a su forma cálcica ha mostrado su acción hipocolesterolémica en ensayos con animales de experimentación [13]. NZ ha

sido también evaluada como matriz para la liberación controlada de fármacos [20] y de iones de interés farmacéutico [61].

1.2 Surfactantes: generalidades

Los surfactantes, también denominados tensoactivos o agentes de superficie activa, son sustancias químicas que poseen una parte hidrofílica y otra hidrofóbica, por lo que se dice que son moléculas anfifílicas. Estas características peculiares hacen posible que al aumentar la concentración, las moléculas se agreguen en determinadas formas para obtener un mínimo de energía libre en el sistema. Este proceso es espontáneo y los agregados macromoleculares que se forman se denominan micelas. Los surfactantes se clasifican en catiónicos, aniónicos, no iónicos y anfotéricos, según la carga que tenga la parte con actividad superficial de la molécula (ver tabla 1.2) [62].

Tabla 1.2 Clasificación de surfactantes según la carga de la parte con actividad superficial de la molécula.

Clasificación	**Ejemplos**	
	Nombre	**Fórmula química**
Aniónico: en disolución acuosa se disocian en un anión anfifilo y un catión, el cual es generalmente un metal alcalino.	Laurilsulfato de sodio	CH_3-$(CH_2)_{11}$-SO_4^- Na^+
Catiónico: en solución acuosa se disocian en un catión anfifilo y un anion, generalmente de tipo halogenado.	Bromuro de alquil-trimetil-amonio	CH_3-$(CH_2)_n$-$N^+(CH_3)_3$ Br^-
No iónico: no forman iones en disolución acuosa, ya que su parte hidrofílica está formada por grupos polares no ionizados como: alcohol, tiol, éter o éster.	Lauril mono etanol amida	CH_3-$(CH_2)_{10}$-CO-NH-CH_2-CH_2-OH
Anfotérico: actúan dependiendo del medio en que se encuentren, en medio básico son aniónicos y en medio ácido son catiónicos.	Dodecil betaína	CH_3-$(CH_2)_{11}$-NH-CH_2-CH_2-COOH

Las disoluciones de sustancias con actividad superficial alta presentan propiedades físicas especiales. En disoluciones diluidas actúan como electrolitos normales, pero a una concentración bien definida para cada surfactante, tienen lugar cambios bruscos en varias de sus propiedades físicas, tales como turbidez, presión osmótica, conductividad eléctrica y tensión superficial, entre otras, como se muestra en la figura 1.3 [63]. McBain [64] señaló que este comportamiento aparentemente anómalo se podía explicar suponiendo la existencia de agregados organizados o

micelas de las moléculas de surfactante, en los que las cadenas hidrofóbicas hidrocarbonadas se orientan hacia el interior, mientras que los grupo hidrofílicos quedan en contacto con el medio acuoso. En el caso de disoluciones de surfactantes en disolventes no polares, los grupos hidrofílicos se ubican en la parte interior de la micela, mientras que las cadenas hidrocarbonadas quedan expuestas al medio. Estas micelas suelen llamarse micelas reversas o micelas invertidas.

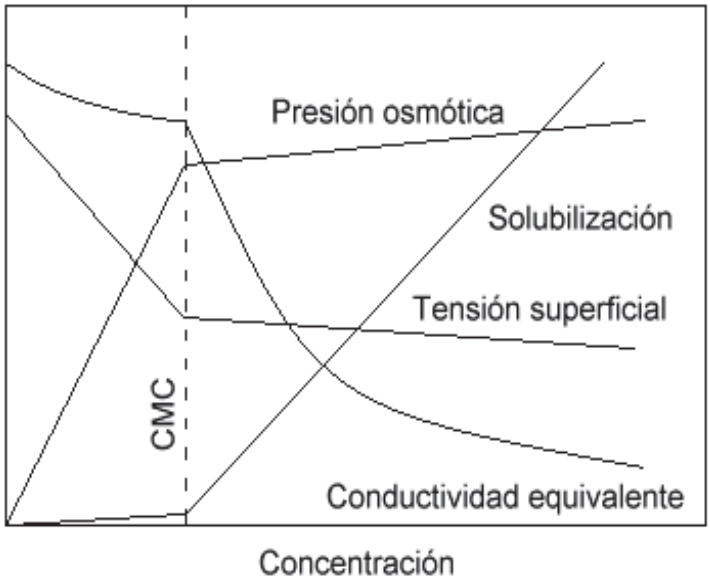


Figura 1.3 Variación de las propiedades físicas de una disolución de surfactante en función de su concentración molar.

La concentración por encima de la cual empieza a apreciarse la presencia de micelas en disolución se denomina concentración micelar crítica (CMC), y es característica de cada surfactante [64]. La agitación térmica y la repulsión electrostática entre las cabezas polares en la superficie de la micela se oponen a esta tendencia a agregarse. Por consiguiente, es de esperar una disminución de la CMC debido a un aumento en la parte hidrofóbica de las moléculas de surfactante, temperaturas bajas o adición de sales, entre otros. Por ejemplo, para una serie homóloga, cada grupo CH_2 añadido a la cadena hidrocarbonada hace que la CMC se reduzca a la mitad [64].

Según el modelo de pseudo fase, la CMC es considerada como un punto de transición entre los estados monómero y micela del surfactante. Como resultado, no hay agregación a concentraciones inferiores a la CMC y a concentraciones de surfactante mayores, la concentración de monómero permanece prácticamente constante e igual a la CMC [62]. Sin embargo, algunos autores sostienen que el fenómeno de micelización se inicia con la formación de agregados pequeños o pre-micelas, que crecen rápidamente en un rango de concentraciones específico para cada surfactante [63]. La

posterior adición de tensoactivo provoca un aumento en el número de agregados presentes en disolución, mientras el tamaño y forma micelar permanecen relativamente inalterados en un intervalo dado [63]. La cantidad de moléculas de surfactante que componen una micela se denomina número de agregación y usualmente se denota como N_{ag} [63]. La CMC no es un valor exacto, corresponde a un rango de concentraciones y su magnitud experimental depende con frecuencia de la metodología empleada para evaluarla.

La forma de las micelas en medio acuoso es muy importante para determinar diferentes propiedades de las disoluciones de surfactante [63]. En la literatura se plantea la existencia de micelas esféricas, laminares, cilíndricas y vesículas (figura 1.4). Las micelas esféricas generalmente existen a concentraciones cercanas a la CMC, mientras que el resto están presentes en disolución a concentraciones elevadas, en equilibrio con las micelas esféricas. Cuando la concentración del surfactante es muy superior a la CMC las micelas pueden deformarse para producir geles, cristales líquidos y microemulsiones [63].

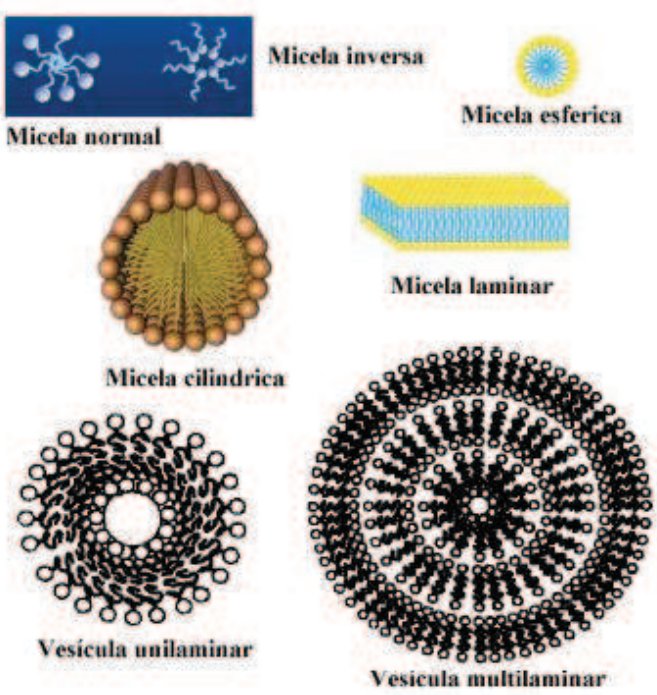


Figura 1.4 Representación esquemática de diferentes microestructuras observadas para surfactantes en disolución.

La región interior de la micela, que contiene los grupos hidrofóbicos, tiene un radio aproximadamente igual a la longitud de la cadena totalmente extendida. La fase acuosa puede penetrar en la micela más allá de los grupos de la cabeza. Por consiguiente, es útil dividir la región

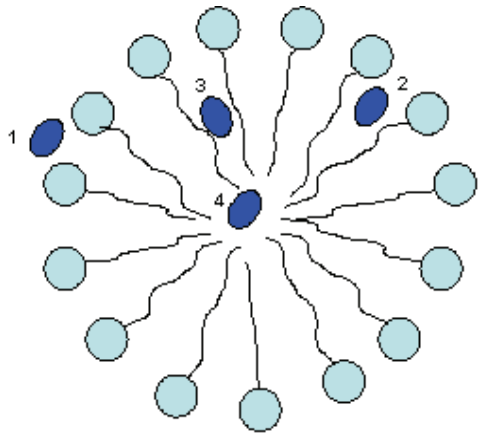
interior de la micela en dos partes, la centro exterior, en la que puede penetrar el agua, y la centro interior, donde el agua es excluida [65].

Para surfactantes iónicos las micelas en disolución no son neutras, ya que sólo una fracción de la carga es compensada por los contra-iones. La fracción de contra-iones asociados a la micela se denomina grado de asociación, y se denota como β. El grado de ionización, α, será por tanto igual a 1 - β. El grado de ionización de las micelas aumenta con el incremento del largo de la cadena hidrocarbonada, o sea, las micelas de surfactantes de cadenas largas están más ionizadas que las de sus homólogos de menor longitud.

1.2.1 Solubilización en agregados de surfactantes

Una de las propiedades más importantes de los surfactantes, que está directamente relacionada con la formación de micelas, es la solubilización micelar. Esta se define como la disolución espontánea de una sustancia (sólido, líquido o gas) por la interacción reversible con las micelas de un surfactante en un disolvente dado, para formar una disolución isotrópica termodinámicamente estable [63]. La importancia de este fenómeno desde el punto de vista práctico, es que hace posible la disolución de sustancias en disolventes en los que ellas son normalmente insolubles. Por ejemplo, aunque el etilbenceno es insoluble en agua, casi 5 g de este compuesto pueden disolverse en 100 mL de una disolución acuosa del surfactante hexadecanoato de potasio 0.3 M, para rendir una disolución clara. La solubilización micelar ha sido ampliamente utilizada en la preparación de formulaciones farmacéuticas, cosméticas, insecticidas, entre otras [63].

La localización de las moléculas solubilizadas depende de la naturaleza del compuesto solubilizado y del surfactante. En la figura 1.5 se representan de forma esquemática los posibles sitios de solubilización en las micelas.



1- superficie de la micela
2- centro exterior
3- empalizada
4- centro interior

Figura 1.5 Representación esquemática de los diferentes sitios de solubilización en las micelas.

Los hidrocarburos alifáticos y alicíclicos saturados, y otros tipos de moléculas que no están polarizadas o no se polarizan fácilmente, son solubilizadas en medio acuoso en la región centro interior de las micelas, entre los extremos de las cadenas hidrocarbonadas de las moléculas de surfactante. Estudios a través espectroscopía ultravioleta (UV) y resonancia magnética nuclear (RMN), indican un ambiente completamente no polar de las moléculas solubilizadas [63].

Los hidrocarburos polarizables, como arenos de cadena corta (benceno, isopropilbenceno), se solubilizan inicialmente en disoluciones de surfactantes catiónicos en la superficie de las micelas, reemplazando moléculas de agua que pueden haber penetrado en la región centro exterior. Sin embargo, al aumentar la concentración en disolución de las moléculas solubilizadas, éstas penetran más profundamente en las micelas, ubicándose en la región de la empalizada o en la región centro interior [66]. La polarizabilidad de la nube de electrones π de los anillos aromáticos y su consecuente posibilidad de interactuar con la carga positiva de la cabeza del surfactante en la interfase micela/agua, explican la adsorción inicial de estos hidrocarburos en tal sitio.

Las moléculas polares grandes, como alcoholes de cadena larga, se solubilizan en la región de la empalizada, con los grupos polares orientados hacia las cabezas polares del surfactante y la parte no polar orientada hacia el interior de la micela. Las interacciones que tienen lugar son presumiblemente por puentes de hidrógeno o atracciones dipolo-dipolo entre los grupos polares de ambas moléculas [67]. Los espectros de RMN en estos casos indican que al menos parte de la molécula solubilizada está en un ambiente polar. La penetración en la región de la empalizada depende de la relación entre las partes polar y no polar de las moléculas. Por ejemplo, los alcoholes de cadena larga penetran más profundamente en la micela que los de cadena corta [67].

Las moléculas polares pequeñas generalmente se solubilizan en la región centro exterior de las micelas, cerca de las cabezas polares del surfactante, o en la superficie de las micelas, o sea, en la interfase micela/agua. Los espectros de RMN de estos compuestos después de la solubilización indican que se encuentran en un ambiente casi completamente polar [63].

La solubilización micelar puede provocar variaciones en la forma y tamaño de la micela, la CMC, el grado de ionización de la micela (α) y la energía libre de micelización (ΔG^{o}_{m}) del surfactante, entre otros. Por ejemplo, la solubilización de alcoholes produce generalmente una disminución en la CMC y un aumento en el grado de ionización de las micelas [67]. Su influencia en los cambios provocados en estos parámetros depende de la localización de la molécula en la micela, sus características polares, su masa molecular y estructura, así como de su concentración.

1.2.2 Adsorción de surfactantes en sólidos

Una de las propiedades de mayor interés de un surfactante es su habilidad para adsorberse en las interfases sólido/líquido. Las numerosas aplicaciones que en las diferentes áreas del conocimiento poseen los surfactantes se deben precisamente a su capacidad de adsorción. Se pueden citar por ejemplo, su utilización en los procesos de flotación, en la hidrofobación de los suelos, en la preparación de emulsiones asfálticas, en la inhibición de la corrosión y como lubricante y suavizante, entre otros.

Los estudios de adsorción normalmente pretenden determinar la velocidad de adsorción del surfactante, la concentración de moléculas adsorbidas, la forma u orientación que adquieren las moléculas del surfactante cuando se adsorben en la interfase, los cambios de energía libre interfacial que ocurren, y las características que adquieren las interfases en presencia de un surfactante.

La adsorción de surfactantes en la interfase sólido/líquido está influenciada por varios factores: (1) la naturaleza de los grupos estructurales de la superficie sólida; (2) la estructura molecular del surfactante que se adsorbe; y (3) las características de la fase acuosa, o sea, pH, concentración de electrolitos, presencia de aditivos orgánicos y temperatura [68]. Teniendo en cuenta los factores anteriores se han propuesto diferentes mecanismos a través de los cuales los surfactantes pueden adsorberse en superficies sólidas a partir de disoluciones acuosas [63]:

1) Intercambio iónico: involucra el desplazamiento de contra-iones adsorbidos en el sustrato, por iones de surfactante de igual signo.
2) Apareamiento de iones: adsorción de iones de surfactante en sitios del sólido con carga opuesta, y que no están ocupados por contra-iones.
3) Interacciones ácido-base: involucra la formación de puentes de hidrógeno entre el sustrato y el adsorbato, o reacciones ácido de Lewis-base de Lewis.
4) Polarización de electrones π: ocurre cuando el adsorbato contiene un anillo aromático y el adsorbente sólido posee sitios con carga positiva.
5) Fuerzas de dispersión: ocurre a través de fuerzas de dispersión London–van der Waals que actúan entre las moléculas del adsorbente y el adsorbato. La adsorción por este mecanismo generalmente aumenta con el incremento de la masa molar del surfactante, y es importante no sólo como mecanismo independiente, sino que es un mecanismo suplementario en todos los otros mecanismos.
6) Interacciones hidrofóbicas: ocurre cuando la atracción mutua entre los grupos hidrofóbicos de la molécula de surfactante y su tendencia a escapar de un ambiente acuoso, son lo

suficientemente grandes para permitir que se adsorba sobre la superficie sólida agregando sus cadenas.

La adsorción de surfactantes iónicos en sólidos que presentan densidad de carga en su superficie, como por ejemplo, alúmina, sílica, arcillas y zeolitas, es un proceso complejo, durante el cual pueden operar, de forma simultánea o sucesiva, varios mecanismos de adsorción como el intercambio iónico, el apareamiento de iones y las interacciones hidrofóbicas.

Los agregados superficiales de surfactantes, llamados admicelas o hemimicelas, para distinguirlos de las micelas que se forman en disolución, se asume que son más o menos planos. Sin embargo, algunos estudios indican que estos agregados cuando se adsorben como monocapas pueden ser de forma semi-esférica, y cuando se adsorben como bicapas pueden tener formas cilíndricas [69,70] (figura 1.6).

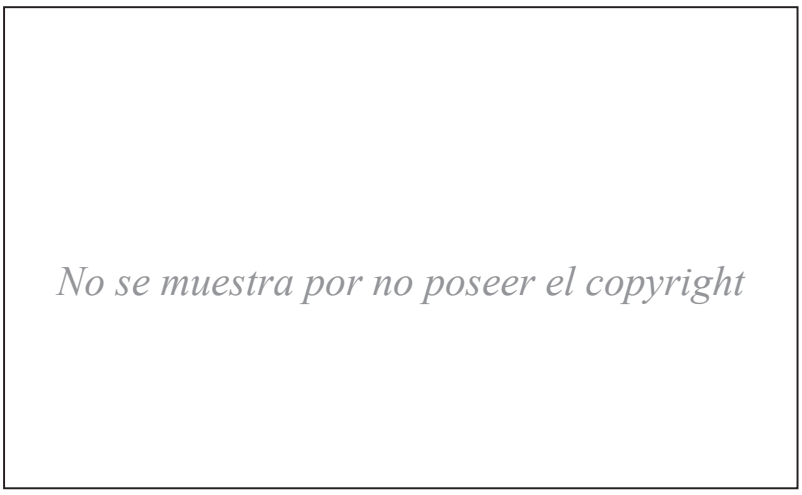


Figura 1.6 Adsorción a través de interacciones hidrofóbicas sobre una superficie no cargada (a) y adsorción a través de interacciones electrostáticas sobre una superficie con carga opuesta a la del surfactante (b). Extraída de la referencia [63].

Las isotermas de adsorción proporcionan información muy útil concerniente a las interacciones electrostáticas que ocurren a bajas concentraciones de surfactantes, y además permiten conocer la manera en que la carga de la superficie del sólido se adapta a las condiciones de la fase acuosa. En general, las isotermas de adsorción pueden ser interpretadas discerniendo los cambios en la proporción en que aumenta la cantidad de surfactante adsorbido en función de su concentración. Esto permite dividir la isoterma en regiones y determinar la conformación más probable del surfactante adsorbido en cada región [63]. En la literatura existen diferentes modelos para interpretar las isotermas de adsorción de surfactantes en superficies sólidas. En numerosos casos, y en

particular para las zeolitas, la adsorción puede ajustarse a una isoterma tipo Langmuir. Sin embargo, el hecho de que los datos experimentales se ajusten aparentemente al modelo, no significa que se cumplan las hipótesis del mismo. En particular, la ausencia de interacciones laterales entre las moléculas adsorbidas, tal y como plantea el modelo de Langmuir, casi nunca se cumple para la adsorción de surfactantes. Además, es posible que se produzca una adsorción en bicapas.

En general, los dos modelos más aceptados son el modelo de dos pasos y el modelo de cuatro regiones. A primera vista estos modelos parecen ser diferentes, pero de hecho tienen mucho en común. Ambos dividen la isoterma en cuatro secciones y existe concordancia con relación a la orientación del surfactante adsorbido en la interfase en la mayoría de las regiones (figura 1.7).



Figura 1.7 Representación de los modelos de dos pasos y cuatro regiones propuestos para la adsorción de surfactantes en superficies sólidas. Tomado de la referencia [68].

De acuerdo al modelo de dos pasos [71] la isoterma de adsorción (en escala lineal) muestra una forma de S característica (ver figura 1.7). En un primer paso los monómeros de surfactante se adsorben a través de interacciones electrostáticas con la superficie del sólido (regiones I y II) y en un segundo paso tiene lugar la formación de hemimicelas (agregados de surfactante). Un incremento abrupto en la adsorción denota el comienzo de la región III. En esta región la concentración de surfactante en disolución es lo suficientemente grande para conducir a las interacciones hidrofóbicas entre los monómeros. En la región IV, que tiene lugar después de la CMC, aparecen los agregados superficiales completamente formados.

El modelo de cuatro regiones [72] ha sido particularmente útil para describir la adsorción de surfactantes aniónicos sobre alúmina y rutilo. Según este modelo, los monómeros de surfactante se adsorben electrostáticamente como iones individuales en la región I y se asocian en hemimicelas en la región II de la isoterma graficada en escala log-log (ver figura 1.7). En la hemimicela el surfactante se orienta con su cabeza cargada dirigida hacia la superficie, mientras las cadenas hidrocarbonadas quedan hacia el medio acuoso, formando así *parches* hidrofóbicos sobre la superficie. El aumento de la concentración resulta en un incremento en el número de agregados de surfactante. La adsorción en la región III ocurre a través del crecimiento de los agregados formados en la región II, sin un incremento en el número de agregados. Finalmente, en la zona de la meseta (región IV), el surfactante adsorbido posee la forma de una bicapa.

Diferentes factores pueden provocar cambios en la adsorción de surfactantes en la interfase sólido/líquido [73]. Por ejemplo, el pH causa cambios marcados en la adsorción de surfactantes iónicos en sólidos cargados. Cuando el pH de la disolución disminuye, la superficie sólida se hace más positiva o menos negativa, debido a la adsorción de protones en los sitios cargados. Esto provoca un incremento en la adsorción de surfactantes aniónicos y una disminución en la adsorción de surfactantes catiónicos. Estos efectos se presentan en materiales como la alúmina, la sílica y otros óxidos minerales. Los cambios en el pH también pueden afectar a las moléculas de surfactante, sobre todo a las que presentan el grupo carboxilato o a las aminas no cuaternarias, ya que pueden convertirse en especies neutras. La adición de electrolitos como NaCl o KBr conlleva a un incremento en la cantidad de surfactante adsorbido. Este efecto se debe posiblemente a que al aumentar la fuerza iónica del medio disminuye la repulsión entre las cabezas cargadas del surfactante [73]. Un incremento en la temperatura causa generalmente una disminución en la adsorción de surfactantes iónicos, debido a que aumenta la energía cinética de las especies en disolución [68].

1.2.3 Solubilización en agregados de surfactante adsorbido: adsolubilización

Los agregados de surfactante adsorbidos en superficies sólidas son capaces de solubilizar otras moléculas dentro de su estructura, análogo a las micelas en disolución. Este fenómeno se conoce en la literatura como adsolubilización o co-adsorción.

Diferentes materiales modificados con surfactantes han sido empleados para la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos en aguas de desechos. En este sentido se destacan los trabajos de Bowman y col. [16,17,74,75], quienes han estudiado ampliamente la adsorción del

surfactante catiónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio en una clinoptilolita natural, así como el empleo de la organo-zeolita obtenida en la remoción de oxianiones y compuestos orgánicos aromáticos. Se han evaluado materiales compuestos zeolita-surfactante y arcilla-surfactante, en estudios *in vitro*, en la adsorción de micotoxinas [21,76]. El objetivo de estos estudios es suministrar los materiales compuestos sólido-surfactante en la dieta animal para reducir los efectos dañinos de las micotoxinas presentes en los alimentos. Los materiales modificados con surfactantes se han empleado también en la preparación de fertilizantes de liberación lenta [77].

En la literatura se reporta además la modificación de la superficie de sustratos sólidos por la adsorción de surfactantes para la incorporación de fármacos. Esta aplicación de la adsolubilización por surfactantes ha recibido mucha atención por parte de la comunidad científica, sobre todo por el hecho de que muchos fármacos son poco solubles en agua. Se puede citar por ejemplo la adsolubilización de propantelina, ácido acetil salicílico y codeína en sílica modificada por surfactantes [78-80]. Otros sustratos como la alúmina, partículas de latex y polímeros, han sido también considerados para la co-adsorción de surfactantes y fármacos [81-83].

A pesar de que las zeolitas naturales presentan excelentes propiedades como adsorbentes y la mayoría son inocuas al organismo humano, se encuentran muy pocos reportes en la literatura en cuanto al empleo de las mismas en la co-adsorción de surfactantes y fármacos. Hasta donde conocemos, sólo los trabajos de Hayakawa y col. [18,19] y Rivera y col. [20], reportan el empleo de zeolitas modificadas con surfactantes como soporte de fármacos. Los primeros autores citados estudiaron la adsorción de dos surfactantes catiónicos, bromuro de dodecil- y tetradecil-trimetilamonio, en mordenita y zeolita P y la posterior adsolubilización de rodamina B y cloroquin. Rivera y col. [20] estudiaron la adsorción de surfactantes de diferentes naturaleza –catiónicos, aniónicos y no iónicos– en la clinoptilolita natural NZ, y la posterior adsolubilización de los fármacos metronidazol y sulfametoxazol.

1.3 Medicamentos genéricos: metronidazol y sulfametoxazol

En este epígrafe se presentan las características generales más importantes de los fármacos metronidazol y sulfametoxazol, los cuales fueron seleccionados como moléculas modelo para el estudio que se presenta. La selección se realizó teniendo en cuenta que los mismos son ampliamente utilizados por la población y que tienen características polares muy diferentes. Adicionalmente, estos fármacos producen un conjunto de efectos colaterales a nivel gastrointestinal que pudieran ser disminuidos por la presencia de la zeolita, pues es conocida su capacidad antiácida [10].

Metronidazol

El metronidazol (1-(β-hidroxil-etil)-2-metil-5-nitroimidazol) es un compuesto antibacteriano y antiprotozoario sintético de uso muy común dado su amplio espectro de actividad. Es un polvo cristalino de color blanco o amarillo pálido, inodoro y ligeramente soluble en agua (1g en 100 mL de agua [84]). A valores de pH menores que su valor de pKa la molécula se encuentra en su forma protonada, por lo que la solubilidad del compuesto aumenta en ácidos diluidos [85]. En la figura 1.8 se muestran la fórmula estructural del metronidazol y el equilibrio de protonación que presenta la molécula en función del pH y de su valor de pKa.

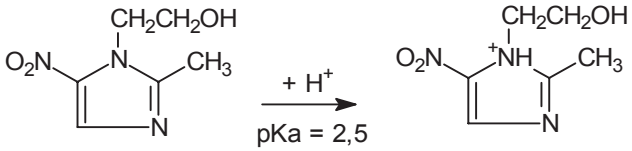


Figura 1.8 Protonación de la molécula de metronidazol a pHs menores que su valor de pKa.

El mecanismo de acción del metronidazol se refleja en una toxicidad selectiva para los microorganismos anaerobios o microaerófilos y para otras células anóxicas o hipóxicas. En las células susceptibles, el grupo nitro de la droga es reducido por portadores de electrones con bajo potencial redox. En esta forma el metronidazol actúa como un "aspirador" de electrones y priva a las células de los equivalentes de reducción que requieren. Sin embargo, se cree actualmente que la forma reducida de la droga es la que realmente produce las lesiones bioquímicas que llevan a la muerte a la célula [86]. Los efectos secundarios del fármaco son en ocasiones lo bastante severos como para requerir la suspensión del tratamiento. Los más comunes se experimentan en el tracto gastrointestinal, en particular náuseas, anorexia, diarrea, molestias epigástricas y cólicos abdominales, y ocasionalmente cefalea y vómitos. Un sabor metálico marcado y desagradable es común [86].

Sulfametoxazol

El sulfametoxazol es un antibacteriano de amplio espectro perteneciente a la familia de las sulfonamidas. Es un sólido cristalino de color blanco, inodoro y de sabor amargo. Es muy poco soluble en agua (1g en 3400 mL de agua [84]), dado su carácter marcadamente no polar, sin embargo, se disuelve en disoluciones acuosas de hidróxido de sodio, ya que sus sales de sodio son ligeramente solubles. En la figura 1.9 se muestran la fórmula estructural y el equilibrio de protonación y desprotonación de la molécula de sulfametoxazol en función del pH y de sus valores de pKa, reportados en la literatura como $pKa_1 = 1.6$ y $pKa_2 = 5.7$ [87,88].

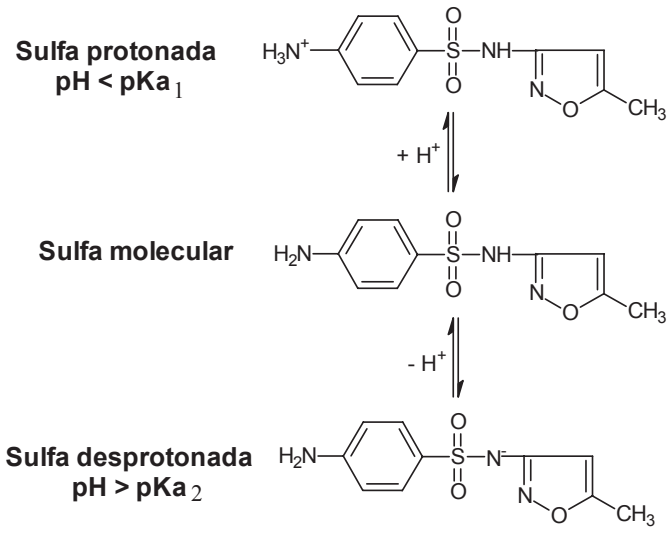


Figura 1.9 Equilibrio de la molécula de sulfametoxazol en función del pH del medio y de sus valores de pKa.

Los prerrequisitos estructurales mínimos de la acción antibacteriana están relacionados con la sulfanilamida [86]. El grupo $–SO_2NH_2$ no es esencial como tal, pero el aspecto importante es que el azufre está unido directamente al anillo bencénico. El grupo $–NH_2$ en posición *para* es fundamental y sólo puede ser reemplazado con radicales que puedan convertirse en los tejidos en un grupo $–NH_2$ libre [86]. Las principales reacciones adversas del sulfametoxazol están relacionadas con trastornos gastrointestinales que se manifiestan principalmente como náuseas, malestar abdominal, vómitos y diarreas, aunque estas últimas se presentan en menor medida.

1.4 Materiales compuestos zeolita-surfactante-fármaco

El desarrollo de sólidos soportes con potenciales aplicaciones como sistemas de liberación de fármacos, es un área de gran actualidad científica [89]. Una vía de adsorber moléculas poco solubles en agua en sólidos con características hidrofílicas, es mediante el empleo de surfactantes que permitan su adsolubilización [90]. Es por ello que la combinación de un soporte sólido inocuo al organismo humano, como es el caso de la clinoptilolita natural NZ, con un surfactante también inocuo, brinda la posibilidad de soportar, o lo que es lo mismo, adsolubilizar moléculas orgánicas de interés farmacéutico. El estudio esta encaminado no sólo a desarrollar un posible sistema soporte empleando fármacos modelos, sino también a caracterizar en detalle las interacciones surfactante-fármaco y zeolita-surfactante, así como realizar ensayos preliminares de liberación de fármacos.

2.1 Surfactantes y fármacos empleados

En el trabajo se utilizó el surfactante catiónico cloruro de benzalconio (CB), el cual consiste en una mezcla de surfactantes de la familia de los cloruros de alquildimetilbencilamonio. Los principales componentes de la mezcla son los homólogos dodecil (CB12), tetradecil (CB14) y hexadecil (CB16) dimetilbencilamonio, o sea, con largo de cadena de 12, 14 y 16 átomos de carbono, respectivamente. El CB, procedente de la industria farmacéutica, se utilizó sin purificación adicional.

La composición del cloruro de benzalconio utilizado en el trabajo se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se empleó un módulo de separación HPLC Water 2790 acoplado a un espectrómetro de masa Micromass Q-Tof. Se utilizó una columna BDS Hypersil C18, con dimensiones de 50 x 2.1 mm y una porosidad de 3μm. Como fase móvil se utilizó la mezcla agua-ácido trifluoroacético al 0.1 % / acetonitrilo-ácido trifluoroacético al 0.1 %, con una proporción en volumen de 45/55 y con una velocidad de flujo de 0.2 μL min^{-1}. El volumen de muestra inyectado fue de 50 μL.

La concentración micelar crítica (CMC) del CB se determinó a partir de mediciones de tensión superficial en función de la concentración, a una temperatura de 298 K. Para esto se prepararon disoluciones acuosas del surfactante a diferentes concentraciones. Las mediciones se realizaron empleando un tensiómetro marca Kruss modelo K12-MK5.

Cuando se estudian mezclas de surfactantes los fenómenos de micelización, solubilización y adsorción, son difíciles de interpretar. Es por ello que en el trabajo se realizaron también estudios empleando los surfactantes puros que componen la mezcla del CB. Los compuestos puros CB12, CB14 y CB16, provenientes de la Fluka, con una pureza de 99, >99 y 97 %, respectivamente, se utilizaron igualmente sin purificación adicional.

Los fármacos empleados fueron el sulfametoxazol y el metronidazol. Se obtuvieron de la industria farmacéutica y se utilizaron sin purificación adicional. Las solubilidades en agua a 298 K del sulfametoxazol y el metronidazol son de 1 g en 3400 mL y 1 g en 100 mL, respectivamente [84].

2.2 Estudio de procesos de micelización de surfactantes y solubilización de fármacos

Los estudios de micelización de surfactantes se realizaron mediante el empleo de diferentes técnicas: conductividad específica, RMN ^{1}H y microcalorimetría de titulación isotérmica. La realización de

estos estudios en presencia de los fármacos permitió evaluar la influencia de los mismos en los procesos de micelización de los surfactantes.

Conductividad específica

Se evaluó la dependencia de la conductividad específica con la concentración para los surfactantes CB12, CB14 y CB16. Se empleó un conductímetro MeterLab CDM 230, acoplado a una celda de conductividad contituida por dos electrodos de platino platinado y una sonda de temperatura. La constante de la celda se comprobó usando disoluciones patrón de KCl. Para realizar el estudio se adicionaron 30 mL de una disolución concentrada de surfactante (CB12 10 mmol L^{-1}, CB14 3 mmol L^{-1} y CB16 0.8 mmol L^{-1}) en un recipiente de vidrio termostatado a 298 ± 0.1 K, y con agitación magnética a 400 rpm. En este recipiente se introdujo la celda de conductividad y se esperó a que se estabilizara la temperatura del sistema. Posteriormente, se comenzaron a adicionar alícuotas sucesivas de 1 mL de agua bi-destilada, para diluir la disolución del surfactante, hasta disminuir a la mitad la concentración inicial. La lectura del valor de conductividad se realizó 5 minutos después de cada adición de agua, para garantizar haber alcanzado el equilibrio térmico del sistema.

El procedimiento anterior fue igualmente empleado para estudiar el efecto de la presencia de fármaco en los procesos de micelización de los surfactantes. En este caso, para preparar la disolución concentrada del surfactante, se disolvió la masa necesaria del mismo en el volumen requerido de una disolución de fármaco a la concentración deseada. Para diluir esta disolución concentrada durante el experimento, en lugar de agua se adicionaron alícuotas de la disolución del fármaco, lo que garantizó que la concentración de este último se mantuviera constante. Las concentraciones evaluadas fueron 0.5, 1, y 2 mmol L^{-1} para el caso del sulfametoxazol, y 1, 2, 3 y 4 mmol L^{-1} para el caso del metronidazol. Estos valores de concentración fueron seleccionados teniendo en cuenta la solubilidad en agua de los fármacos estudiados (ver epígrafe 2.1).

Resonancia magnética nuclear del protón

Los surfactantes CB12 y CB14 se seleccionaron para realizar los experimentos de RMN ^{1}H por ser los componentes mayoritarios de la mezcla de cloruro de benzalconio. Para llevar a cabo estos estudios se registraron los espectros de RMN ^{1}H de tres series de disoluciones:

1. Disoluciones de surfactantes a diferentes concentraciones.
2. Disoluciones de surfactantes a diferentes concentraciones y una concentración constante de fármaco, sulfametoxazol o metronidazol.

3. Disoluciones de diferentes concentraciones de sulfametoxazol y una concentración constante de surfactante (CB12 o CB14) por encima de su valor de CMC.

Para la primera serie de disoluciones las concentraciones evaluadas del surfactante CB12 fueron: 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 16 y 20 mmol L^{-1}, y para el surfactante CB14 se estudiaron concentraciones de 0.5, 1, 1.25, 1.5, 2, 3, 4, 7 y 10 mmol L^{-1}. En la segunda serie se emplearon estas mismas concentraciones de surfactante y una concentración fija de fármaco de 2 mmol L^{-1}. Para preparar la tercera serie se emplearon concentraciones de sulfametoxazol de 0.1, 0.5, 1, 2, 3 y 4 mmol L^{-1}, y concentraciones constantes de surfactante de 12 mmol L^{-1} para el caso del CB12, y 3 mmol L^{-1} para el surfactante CB14. Estas dos concentraciones de surfactante corresponden al doble del valor de la CMC determinada por RMN ^{1}H.

Para la primera serie de disoluciones se monitorearon los cambios en el desplazamiento químico y la intensidad de las señales de los diferentes protones de los surfactantes, para conocer la orientación del anillo aromático de la cabeza polar del surfactante en la micela, así como la CMC en agua deuterada. El análisis de los espectros de la segunda serie permitió conocer como varían los desplazamientos químicos de las señales de ambas moléculas, surfactante y fármaco, en función de la concentración del surfactante, lo que brindó información sobre el proceso de micelización del surfactante en presencia del fármaco, y sobre la interacción entre ambos compuestos antes y después de la CMC. La variación de los desplazamientos químicos de los protones del surfactante, en la tercera serie, permitió conocer acerca de la magnitud del efecto del sulfametoxazol en el proceso de micelización al incrementarse la concentración del fármaco.

Todas las disoluciones se prepararon en agua deuterada (D_2O). Los espectros de RMN ^{1}H se registraron utilizando un espectrómetro Bruker DRX operando a 400.13 MHz. Cada espectro es el promedio de 128 acumulaciones adquiridas de forma cuantitativa, utilizando un pulso de 90° por 10 microsegundos y un intervalo de tiempo entre cada acumulación de 6 segundos. El tetrametilsilano (δ = 0.0000 ppm) y el benceno deuterado (δ = 7.1572 ppm) se utilizaron como estándares internos. Los mismos se colocaron en un capilar de 1 mm de diámetro y se introdujeron luego en el tubo de RMN, para evitar su contacto con los componentes de la disolución. Teniendo en cuenta la influencia de la temperatura en los procesos de micelización, los tubos de RMN conteniendo las disoluciones fueron equilibrados dentro del equipo a 298 K durante 15 minutos antes de registrar los espectros.

Microcalorimetría de titulación isotérmica

Los cambios de entalpía que acompañan el proceso de dilución de una disolución concentrada de CB12 a 298 K, en ausencia y en presencia de una concentración constante de sulfametoxazol, se monitorearon utilizando un microcalorímetro Montcal (figura 2.1). La descripción detallada del equipo, sus principios de operación y sus especificaciones técnicas, han sido reportados en la literatura [91,92], aquí sólo describiremos las condiciones experimentales más importantes bajo las cuales se realizaron los ensayos.



1- Termopares de medición
2- Termopares de referencia
3- Sonda de calibración
4- Celda de acero inoxidable
5- Tapa de la celda
6- Agitador
7- Bloque de aluminio
8,9 Capilar de acero inoxidable conectado a la jeringuilla por donde se inyecta la disolución a la celda
10- Precalentador
11- Imán acoplado al agitador
12- Imán acoplado a un motor eléctrico
13- Motor eléctrico
14- Cilindro soporte de aluminio
15- Jeringuilla

Figura 2.1 Esquema de la celda calorimétrica del calorímetro Montcal [93].

Para realizar los experimentos se colocaron alrededor de 8 mL de agua bi-destilada o de una disolución de sulfametoxazol a una concentración de 0.5 mmol L^{-1} en la celda calorimétrica. Una vez que se alcanzó la estabilidad térmica del sistema (alrededor de 12 h) se comenzaron a inyectar a la celda alícuotas pequeñas (50 μL) de una disolución concentrada de CB12 (80 mmol L^{-1}, 10 veces el valor de la CMC de este surfactante). La homogeneidad del sistema se garantizó mediante agitación mecánica constante. El equilibrio de disolución, después de cada inyección de la disolución concentrada de surfactante, se alcanza de forma casi instantánea, y puede recogerse el efecto térmico que acompaña este proceso. Después de que el sistema vuelve a su estado de equilibrio térmico, lo cual demora aproximadamente 15 minutos, se procede a efectuar la siguiente

inyección. O sea, que el progreso de la dilución es continuamente monitoreado por los cambios de temperatura que tienen lugar en la celda después de cada inyección.

Cuando se estudió la micelización del surfactante en presencia del sulfametoxazol, la disolución de CB12 concentrada que se inyecta a la celda calorimétrica (la cual contiene inicialmente 8 mL de una disolución del fármaco 0.5 mmol L^{-1}), se preparó disolviendo la masa necesaria de surfactante en el volumen requerido de una disolución de sulfametoxazol de concentración 0.5 mmol L^{-1}, para garantizar que la concentración de este último se mantuviera constante durante todo el experimento.

Para realizar la calibración de los picos de efecto térmico se disipó una cantidad conocida de energía dentro de la celda. En este caso se empleó una potencia de 1 mW por 30 segundos, que corresponde a 30 mJ. Las calibraciones se hicieron al inicio y al final del experimento y cada 10 inyecciones de la disolución de surfactante. La variación de entalpía de cada paso de dilución (ΔH_{dil}^{i}) se determinó haciendo uso de la siguiente aproximación [93]:

$$\Delta H_{dil}^{i} = \frac{\Delta H_{\exp}}{\Delta n^{i}} \tag{2.1}$$

donde: ΔH_{exp} es la variación de entalpía experimental, y Δn^{i} es la cantidad de sustancia inyectada en cada paso de dilución.

El ΔH_{exp} de cada paso de dilución se determinó del área del pico de efecto térmico correspondiente, conociendo que el área de cada pico de calibración corresponde a 30 mJ de calor evolucionado. La variación de entalpía de dilución acumulativa (ΔH_{dil}^{acum}) se calculó según la ecuación (2.2) [93].

$$\Delta H_{dil}^{acum} = \sum_{i=1}^{n} \Delta H_{dil}^{i} \tag{2.2}$$

2.3 Clinoptilolita natural purificada (NZ)

Para la realización del trabajo se seleccionó como materia prima, la zeolita natural clinoptilolita del yacimiento Tasajeras, ubicado en la provincia de Villa Clara. El mineral molinado se sometió a un proceso de purificación que consistió en lavados con agua, en lecho fluidizado, para eliminar las fases densas y ligeras, y en la remoción de impurezas magnéticas. Teniendo en cuenta el papel del tamaño de partícula en los procesos de intercambio iónico y adsorción, se realizó una clasificación granulométrica mediante tamizado en seco y se seleccionó como material óptimo para el trabajo aquél cuyo tamaño de partícula estuviera entre 40 y 90 μm. El material zeolítico obtenido se

denominó NZ, y consiste en una mezcla de alrededor de un 70 % de clinoptilolita, 5 % de mordenita, 15 % de anortita y 10 % de cuarzo. NZ se utilizó como material de partida para la obtención de formas modificadas mediante intercambio iónico y tratamientos ácidos y básicos, como se detallará en el epígrafe siguiente. Es importante señalar que NZ cumple con los requerimientos de la Norma Cubana para ser utilizada en la industria médico farmacéutica [7].

2.3.1 Obtención de las formas modificadas de NZ

Se prepararon muestras de NZ enriquecidas en diferentes cationes, y muestras modificadas mediante tratamientos ácidos y básicos. Las muestras de NZ enriquecidas en sodio, potasio y calcio se prepararon mediante intercambio iónico, empleando disoluciones de concentración 1 mol L^{-1} de NaCl, KCl y $CaCl_2$, respectivamente. En una primera etapa se realizó una transformación hidrotérmica a 373 K por 2 horas en condiciones de reflujo, con una relación sólido:líquido de 1g:2mL. Luego de centrifugar, se adicionó disolución fresca al sólido con la misma relación sólido:líquido y se dejó en zaranda a temperatura ambiente por 18 horas. El proceso anterior se repitió por 6 horas más, y finalmente se centrifugó. Con el objetivo de eliminar el exceso de sal, las muestras sólidas fueron lavadas varias veces con agua destilada, hasta obtener un resultado negativo de la prueba de cloruro efectuada a las aguas de lavado. Finalmente, las muestras se secaron en estufa a 353 K. Las muestras enriquecidas en sodio, potasio y calcio se denominaron NZ-Na, NZ-K y NZ-Ca, respectivamente.

Las muestras ácidas se prepararon tratando a NZ con disoluciones de HCl a concentraciones de 0.1, 0.5 y 1 mol L^{-1}, respectivamente. La interacción tuvo lugar a temperatura ambiente por 1 hora, con una relación sólido:líquido de 1g:250mL y agitación magnética a 300 rpm. Después de la interación las suspensiones se filtraron y una porción de cada muestra sólida se secó en estufa a 353 K. Estas muestras se nombraron NZH-0.1, NZH-0.5 y NZH-1, donde el número se refiere a la concentración de ácido empleada. Las porciones restantes de las muestras se lavaron con agua destilada hasta que las aguas de lavado tuvieron un pH neutro y luego se secaron en estufa a 353 K. Las muestras después de los lavados se nombraron NZH-0.1-lav, NZH-0.5-lav, y NZH-1-lav.

Las muestras básicas NZOH-0.1-lav, NZOH-0.5-lav, y NZOH-1-lav, se prepararon tratando 1 g de NZ con 2 mL de disolución de NaOH de concentración 0.1, 0.5 y 1 mol L^{-1}, respectivamente. El proceso se llevó a cabo por 1 hora a temperatura ambiente, y agitación magnética a 300 rpm. Después de la interacción, las muestras se lavaron con agua destilada hasta obtener un pH neutro en las aguas de lavado y se secaron en estufa a 353 K.

2.4 Estudios de adsorción de surfactantes y fármacos en los materiales zeolíticos

Para los estudios de adsorción de surfactantes sobre NZ y las formas modificadas de esta zeolita, se pusieron en contacto 1 g del sólido con 20 mL de disolución de surfactante a diferentes concentraciones. Las muestras se dejaron equilibrar a 298 K y con agitación por 24 horas, y posteriormente las suspensiones fueron filtradas. Las disoluciones antes y después de la interacción con el sólido se analizaron por espectroscopía ultra violeta (UV) para determinar la concentración del surfactante. Se empleó un espectrofotómetro ultravioleta marca Optizen, modelo 2120. La cantidad de surfactante adsorbido por gramo de zeolita (Γ) se determinó empleando la siguiente ecuación:

$$\Gamma = \frac{(C_i - C_{eq})V}{m} \tag{2.3}$$

donde: C_i es la concentración inicial de surfactante, C_{eq} es la concentración de surfactante en el equilibrio, V es el volumen de disolución, y m es la masa de zeolita.

En el caso de las muestras sometidas a tratamientos ácidos y básicos se utilizaron las muestras resultantes de los procesos de lavados para realizar los estudios de adsorción del CB. Se empleó una concentración fija de surfactante de 18 mmol L^{-1}, considerando que la cantidad adsorbida correspondiente se encuentra en la zona de la meseta de la isoterma de adsorción de este surfactante en NZ.

La adsolubilización de sulfametoxazol y metronidazol en NZ se realizó en presencia del surfactante CB12, que es el componente mayoritario de la mezcla de CB. Se procedió de forma similar a los estudios de adsorción de surfactante en los materiales zeolíticos, pero en este caso se emplearon disoluciones de los fármacos a diferentes concentraciones, mientras que la concentración de surfactante se mantuvo constante. Se evaluaron dos concentraciones de CB12, 5 y 14 mmol L^{-1}, las cuales están por debajo y por encima de su valor de CMC, respectivamente. Las disoluciones antes y después de la interacción se midieron empleando espectroscopía UV y análisis de carbón orgánico total, para determinar las concentraciones de fármaco y surfactante, respectivamente. Se utilizó un analizador de carbón orgánico total marca Shimadzu modelo TOC 5000A. Para el caso del sulfametoxazol, que es el fármaco que más se adsorbe en NZ, la isoterma de adsorción se obtuvo también en presencia del CB, a una concentración constante de surfactante de 18 mmol L^{-1}.

2.5 Estudio de la influencia de diferentes parámetros en la adsorción de cloruro de benzalconio y sulfametoxazol sobre NZ

Se evaluó el efecto de la fuerza iónica del medio, la temperatura, el tiempo de contacto y el pH del medio, en la adsorción de CB y la adsolubilización de sulfametoxazol en NZ. En todos los casos 1 g de NZ se puso en contacto con 20 mL de disolución de CB (estudios de adsorción), o de CB más sulfametoxazol (estudios de adsolubilización). Las concentraciones de surfactante y fármaco se mantuvieron constantes a 18 mmol L^{-1} y 2.5 mmol L^{-1}, respectivamente. Los contenidos de surfactante y fármaco en disolución antes y después de la interacción con NZ se determinaron por espectroscopía UV.

La influencia de la fuerza iónica del medio se evaluó empleando los electrolitos NaCl y KCl. Estos se seleccionaron teniendo en cuenta que el surfactante estudiado (CB) es un cloruro, y considerando además que la muy diferente afinidad de la clinoptilolita por los cationes Na^+ y K^+. Las disoluciones de surfactante y surfactante-fármaco se prepararon disolviendo la masa requerida de los mismos en disoluciones de las sales a concentraciones de 0.001, 0.005, 0.01, 0.05 y 0.1 mol L^{-1}. Las muestras se equilibraron por 24 horas a 298 K con agitación y luego se filtraron. Para estudiar la influencia de la temperatura, las muestras se dejaron en agitación por 24 horas a temperaturas de 298, 308 y 318 K. Para los estudios cinéticos las muestras se dejaron equilibrar por diferentes tiempos (5, 10, 15 y 30 min, y 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 y 24 h) a 298 K. El efecto del pH se evaluó en el rango comprendido entre 4 y 12 unidades. El pH de la suspensión se ajustó empleando disoluciones concentradas de HCl y NaOH. En este caso las muestras se equilibraron por 6 horas a 298 K. Teniendo en cuenta la capacidad neutralizante de NZ, el valor de pH del sistema se midió a la mitad y al final del tiempo de interacción.

Las condiciones experimentales para obtener los materiales compuestos zeolita-surfactante (NZ-CB) y zeolita-surfactante-fármaco (NZ-CB-S y NZ-CB-S1) se seleccionaron teniendo en cuenta los resultados de los estudios presentados arriba. Para preparar el material compuesto NZ-CB se pusieron en contacto 1 g de NZ con 20 mL de una disolución acuosa de CB a una concentración de 18 mmol L^{-1}. El pH de esta suspensión se ajustó a 10, empleando una disolución concentrada de NaOH, y se dejó interactuar bajo agitación a una temperatura de 303 K durante 6 horas. Posteriormente, la suspensión se filtró y la disolución se analizó por espectroscopía UV para determinar la concentración remanente de surfactante. Los materiales compuestos zeolita-surfactante-fármaco se prepararon siguiendo el mismo procedimiento, pero en este caso NZ se puso

a interactuar con una disolución mixta que contenía CB y sulfametoxazol. La concentración de surfactante utilizada fue igualmente de 18 mmol L^{-1}, y en el caso del sulfametoxazol se emplearon concentraciones de 2.5 y 5 mmol L^{-1} para obtener los materiales NZ-CB-S y NZ-CB-S1, respectivamente. Los sólidos obtenidos se secaron a 353 K y se caracterizaron a través de diferentes técnicas de análisis, las cuales se presentarán en el epígrafe 2.7.2. Cada material compuesto se obtuvo seis veces, con el objetivo de evaluar la repetibilidad del método de preparación.

2.6 Ensayos de liberación de sulfametoxazol

El material compuesto NZ-CB-S1 se seleccionó para realizar los ensayos de liberación de sulfametoxazol, considerando que presenta una mayor cantidad de fármaco adsorbido. Para realizar el estudio se pusieron en contacto 0.5 g de NZ-CB-S1, en forma de polvo, con 50 mL de una disolución de HCl 0.1 mol L^{-1}, en una celda termostatada a 37 ± 0.5 ^{o}C, y agitación magnética de 100 rpm. Estas condiciones experimentales se seleccionaron con el objetivo de simular gruesamente las condiciones existentes en el estómago. Se tomaron alícuotas de disolución a intervalos de una hora hasta completar 11 horas de interacción, reponiendo en cada caso el volumen extraído con el medio de disolución. Las muestras tomadas fueron filtradas y analizadas por espectroscopía UV para determinar la concentración de fármaco presente en disolución a los diferentes tiempos.

2.7 Técnicas de análisis empleadas en la caracterización de las muestras objeto de estudio

2.7.1 Técnicas utilizadas en el estudio de NZ y sus formas modificadas

Espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado por inducción (ICP-AES): Se utilizó con el objetivo de determinar el contenido de Si, Al, Na, K, Ca, Mg y Fe en las muestras zeolíticas. Para esto se disolvieron 0.2 g de cada muestra utilizando una mezcla de ácidos fluorhídrico, perclórico, y clorhídrico. Para el análisis de silicio las muestras fueron digeridas mediante fusión alcalina. Para realizar las mediciones se empleó un espectrómetro ARL-3580 ICP-OE.

Difracción de Rayos X (DRX): El análisis cualitativo por DRX permitió conocer la influencia de las transformaciones hidrotérmicas, ácidas y básicas, en la estructura cristalina de NZ. También se analizó la posible aparición de nuevas fases cristalinas, así como cambios en las intensidades relativas de los picos de difracción de las fases zeolíticas con respecto a la muestra de partida. Los patrones de difracción de las muestras en forma de polvo se registraron en un difractómetro Philips Xpert MPD, empleando radiación de la línea Kα del Cu (λ = 1.541838 Å). Se barrió un intervalo angular de 2θ entre 5º y 50°, de forma continua, con una velocidad de 2°/min.

Resonancia Magnética Nuclear de Alta Resolución (RMN MAS) de ^{27}Al y ^{29}Si: Esta técnica se utilizó para conocer la evolución de los elementos aluminio y silicio antes y después de los tratamientos ácidos y básicos. Además, permitió evaluar el comportamiento estructural de los diferentes materiales. Los espectros de RMN MAS (del inglés "magic angle spinning") se registraron a temperatura ambiente, empleando un espectrómetro Bruker ASX-300. Algunos de los parámetros relevantes para cada núcleo se muestran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1 Condiciones empleadas en la adquisición de los espectros de RMN MAS de estado sólido para los núcleos ^{27}Al y ^{29}Si.

Núcleo	ν (MHz)	Referencia	t^{pulso} (μs)	θ (°)	t_{rec} (s)	Velocidad de rotación (kHz)	Número de acumulaciones
^{27}Al	78.2	$Al(NO_3)_3$	3.00	30	1	10	2048
^{29}Si	59.62	TMS	2.25	90	1	10	~7000

ν: frecuencia de operación, t^{pulso}: duración del pulso, θ: ángulo del pulso, t_{rec}: tiempo de reciclaje, TMS: tetrametilsilano

Se emplearon masas similares de muestra para llenar el rotor (portamuestra), con el objetivo de poder realizar una comparación semi-cuantitativa de los espectros. Esto tiene especial relevancia para el núcleo de ^{27}Al, debido a las dificultades asociadas con las interpretaciones cuantitativas de los espectros, ya que el RMN MAS no es capaz de eliminar completamente las contribuciones cuadrupolares de la anisotropía.

Adsorción de Nitrógeno: Estas mediciones se realizaron con el objetivo de evaluar si el área superficial específica y/o el área superficial externa de las muestras son afectadas o no como resultado de los tratamientos realizados. Las isotermas de adsorción de N_2 gaseoso en NZ y las muestras sometidas a tratamientos ácidos y básicos se realizaron a la temperatura del nitrógeno líquido (77 K), empleando un equipo Micromeritics ASAP 2010. Antes de llevar a cabo las mediciones las muestras se trataron a 573 K en vacío (1.3×10^{-2} Pa) durante 10 horas, para eliminar el agua adsorbida. El área superficial externa (A_{ext}) se determinó mediante el análisis α_S-plot, usando como referencia los datos de adsorción de N_2 a 77 K sobre sílica hidroxilada no porosa [94].

2.7.2 Técnicas empleadas en el estudio de los materiales compuestos NZ-surfactante y NZ-surfactante-fármaco

Espectroscopía infrarroja de transmitancia (FT-IR): Brindó información sobre las posibles variaciones en los modos de vibración de las fases zeolíticas luego de los tratamientos realizados.

Además, esta técnica permitió corroborar la presencia de surfactante en las muestras. Los espectros se colectaron empleando un espectrómetro FT-IR Nicolet AVATAR 330, en el intervalo de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1}. Las muestras se prepararon mediante la técnica de pastillas prensadas de KBr, con un 1 % de inclusión de la muestra a ser analizada.

Análisis termogravimétrico (TG/DTG): Estas mediciones permitieron conocer detalles relacionados con la estabilidad térmica de los materiales compuestos, así como ratificar la cantidad superficial de surfactante en NZ. Se empleó un analizador térmico NETZSCH STA 409 PC/PG, con flujo de aire seco a una velocidad de 50 mL min^{-1}, y una velocidad de calentamiento de 10 K min^{-1}, desde 20 hasta 800 ^{o}C. La sensibilidad de la termobalanza utilizada fue de ± 1 μg. Las masas de muestras utilizadas para efectuar las mediciones fueron de alrededor de 30 mg.

Espectroscopía ultravioleta visible de reflectancia difusa (UV-VIS-RD): Permitió corroborar la presencia del surfactante y el fármaco en los materiales compuestos. Los espectros se colectaron a temperatura ambiente, empleando un espectrofotómetro CARY SCAN 300 (VARIAN), acoplado con una esfera de integración estándar. Las mediciones se realizaron en el intervalo de longitud de onda de 190 a 850 nm. La clinoptilolita natural (NZ) se seleccionó como muestra de referencia. Los espectros presentados en la tesis se obtuvieron restando el espectro de la muestra de referencia del espectro de la muestra bajo estudio.

Difracción de Rayos X (DRX): El análisis cualitativo de DRX permitió comprobar la estabilidad estructural de la zeolita después de los tratamientos realizados. Los patrones de difracción de las muestras se registraron bajo las condiciones experimentales descritas en el epígrafe 2.7.1.

Aunque en este capítulo se han reportado las sensibilidades de algunos de los equipos de medición, los errores serán presentados caso a caso en los capítulos siguientes, siempre que no sean despreciables o irrelevantes para los análisis correspondientes. En la mayoría de los casos las cotas de error reportadas corresponden al error absoluto, determinado mediante propagación de errores. En ocasiones se reporta la desviación estándar de dos o tres réplicas, en tales casos se insertaron notas aclaratorias en el pie de figura del gráfico correspondiente.

3.1 Introducción

La capacidad de los surfactantes de formar micelas en disolución, por encima de la concentración micelar crítica (CMC), es un fenómeno ampliamente conocido [63]. Las micelas de surfactante pueden incorporar otras moléculas dentro de su estructura, lo que se conoce como solubilización micelar, y es la base de su amplia utilización en procesos farmacéuticos y tecnológicos [95]. La mayoría de los fármacos son moléculas orgánicas poco solubles en agua, por lo que el uso de micelas para su solubilización ha sido un tópico de gran atención en los últimos tiempos [96].

Considerando lo antes expuesto, en este capítulo se estudia el proceso de micelización del cloruro de benzalconio y la solubilización micelar de los fármacos modelos sulfametoxazol y metronidazol. El objetivo es conocer las características de las interacciones surfactante-fármaco en medio acuoso y los posibles sitios donde los fármacos son solubilizados en las micelas. Para tales propósitos se emplean la conductimetría, la resonancia magnética nuclear del protón, y la microcalorimetría de titulación isotérmica, como técnicas efectivas en el estudio de sistemas micelares. Teniendo en cuenta las dificultades en la interpretación de los resultados cuando se trabaja con mezclas de surfactantes, el estudio se realiza con los homólogos puros de diferente largo de cadena que componen la formulación de CB (CB12, CB14 y CB16).

3.2 Cloruro de benzalconio: composición y concentración micelar crítica

Como se ha mencionado previamente, el cloruro de benzalconio es una mezcla de surfactantes de la familia de los cloruros de alquildimetilbencilamonio, muy utilizado en la industria farmacéutica. Los principales componentes de la mezcla son los homólogos dodecil (CB12), tetradecil (CB14) y hexadecil (CB16), o sea, los surfactantes con 12, 14 y 16 átomos de carbono en la cadena hidrocarbonada, respectivamente. La composición química (expresada en porciento en peso) del cloruro de benzalconio empleado en este trabajo es la siguiente: CB12 77 %, CB14 20 % y CB16 3 %, según se determinó mediante el uso combinado de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y espectrometría de masas.

En la figura 3.1 se presenta el gráfico de tensión superficial de disoluciones de CB en función de la concentración de surfactante. Las mediciones de tensión superficial permitieron determinar parámetros importantes relacionados con el proceso de micelización del CB, tales como la concentración micelar crítica (CMC), la cantidad de surfactante adsorbido en la interfase agua/aire

(Γ_m), y el área de la sección trasversal ocupada por una molécula de surfactante en la interfase (A_s). En la tabla 3.1 se recogen las magnitudes de estos parámetros.

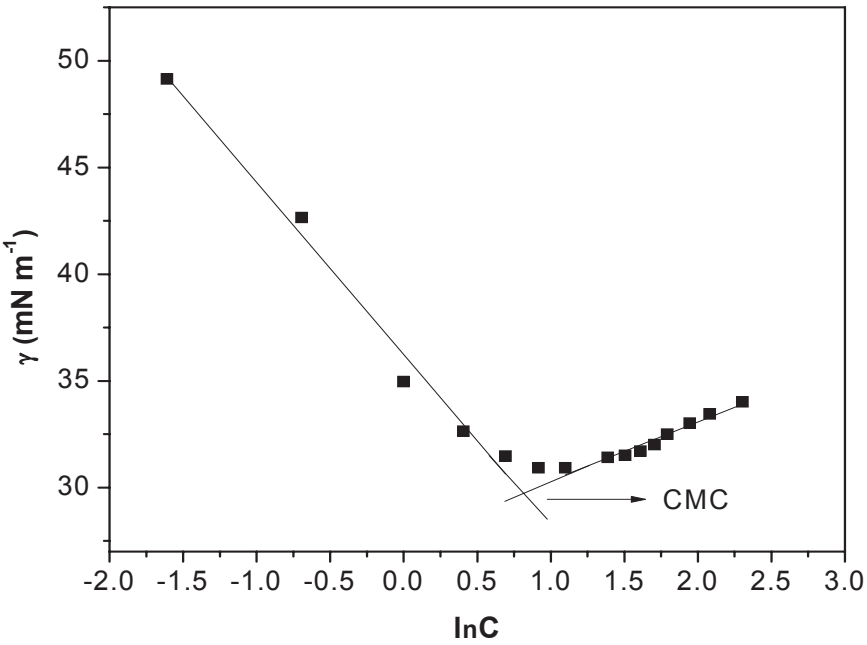


Figura 3.1 Curva de tensión superficial en función de la concentración para el surfactante cloruro de benzalconio a 298 K. El error en la tensión superficial es menor que el tamaño de los símbolos uilizados en el gráfico.

Tabla 3.1 Valores de los parámetros CMC, Γ_m y A_S, determinados a partir de las mediciones de tensión superficial para el cloruro de benzalconio.

CMC (mmol L^{-1})	**Γ_m (mol m^{-2})**	**A_s (Å^2)**
1.6 ± 0.4	1.7 ± 0.1 x 10^{-6}	100 ± 6

La CMC se determinó del intercepto entre las rectas correspondientes a las regiones pre- y post-micelar, como se muestra en la figura. Para surfactantes iónicos la relación entre la tensión superficial y la concentración viene dada por la ecuación de adsorción de Gibbs, la cual establece que [63]:

$$d\gamma = -2RT\Gamma_m d\ln C \qquad (3.1)$$

donde: dγ es el cambio en la tensión superficial, R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta, Γ_m es la cantidad máxima adsorbida en la interfase, y C es la concentración de surfactante.

Así, la cantidad de surfactante adsorbido en la interfase, Γ_m, expresada en mol m^{-2}, puede ser determinada de la pendiente del gráfico de tensión superficial contra concentración en la región pre-micelar. Conociendo Γ_m puede determinarse el área de la sección transversal ocupada por una molécula de surfactante en la interfase (A_s), empleando la siguiente ecuación [63]:

$$A_s = \frac{1}{N_A \Gamma_m} \tag{3.2}$$

donde: N_A es el número de Avogadro.

A través de una estimación analítica, donde se tuvieron en cuenta las distancias de enlace y los radios de van der Waals de los átomos de la cabeza polar del CB, se obtuvo un valor de área de la sección transversal de 51 $Å^2$ (asumiendo un área rectangular). Si se compara este valor de A_s con el obtenido experimentalmente se puede comprobar que las moléculas de CB se empaquetan de forma poco densa en la interfase agua/aire. Esto ocurre probablemente por la repulsión existente entre las cabezas con carga positiva. Es lógico por tanto, que el valor obtenido aquí difiera también de los valores reportados por otros autores para surfactantes homólogos (con la misma cabeza polar): 50.1 $Å^2$ [97] y 58 $Å^2$ [98], donde los experimentos de tensión superficial se realizaron en presencia de electrolitos, los cuales se conoce que disminuyen la repulsión entre las cabezas cargadas y por tanto el área de empaquetamiento.

3.3 Micelización de homólogos puros y solubilización de fármacos

3.3.1 Conductividad específica

En la figura 3.2 se muestra el gráfico de la dependencia de la conductividad específica con la concentración para el surfactante CB14. En la curva pueden identificarse dos líneas rectas que se interceptan a un valor de concentración que corresponde a la CMC. Comportamientos similares se obtuvieron para los otros dos surfactantes puros, CB12 y CB16, aunque los cambios de pendiente fueron menos pronunciados en estos casos, como se verá más adelante. Es importante mencionar que para la mezcla de CB no se observó el cambio de pendiente en la curva, por lo que no fue posible determinar su CMC mediante esta técnica. Esto se debe muy probablemente a la formación de micelas mixtas entre los homólogos con diferente largo de cadena hidrocarbonada. En tal caso, la CMC se determinó por el método de tensión superficial, como se presentó en el epígrafe 3.2.

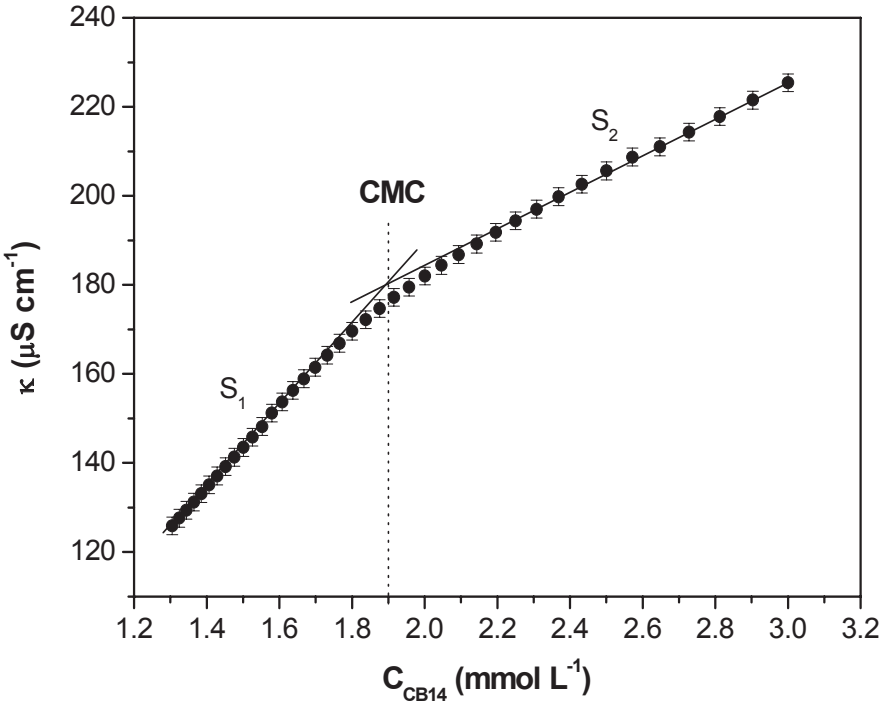


Figura 3.2 Evolución de la conductividad específica del surfactante CB14 en función de su concentración a 298 K.

El grado de ionización de las micelas, α, se determinó de la relación $\alpha = S_2/S_1$, donde S_1 y S_2 son las pendientes de las rectas antes y después de la CMC, respectivamente (ver fundamento teórico en Anexo A2). La energía libre estándar de micelización, ΔG^o_{mic}, se determinó a partir de la siguiente ecuación [63]:

$$\Delta G^o_{mic} = (2-\alpha)RT \ln \chi_{CMC} \tag{3.3}$$

donde: α es el grado de ionización de las micelas, R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta, y χ_{CMC} es la fracción molar del surfactante cuando la concentración corresponde a la CMC.

En la tabla 3.2 se presentan los valores de CMC, α, y ΔG^o_{mic}, determinados para cada uno de los surfactantes puros. Los valores de CMC obtenidos para estos surfactantes son coherentes con los reportados en la literatura [99-103]. Sin embargo, existen algunas discrepancias en los valores de α y ΔG^o_{mic}, para los homólogos CB12 y CB16, como se discutirá más adelante. Para el surfactante CB14, los valores de ΔG^o_{mic} y α obtenidos se corresponden con los reportados por otros autores [99,101,102,104].

Tabla 3.2 Valores de concentración micelar crítica (CMC), grado de ionización de las micelas (α) y energía libre estándar de micelización (ΔG^{o}_{mic}), determinados a partir de las mediciones de conductividad específica en función de la concentración de surfactante a 298 K.

Surfactante	CMC (mmol L^{-1})	α	ΔG^{o}_{mic} (kJ mol^{-1})
CB12	8.19	0.67	-29.1
CB14	1.90	0.46	-39.3
CB16	0.52	0.74	-36.2

Los errores en las magnitudes reportadas son: CMC ± 0.07 mmol L^{-1}, α ± 0.05, y ΔG^{o}_{mic} ± 0.1 kJ mol^{-1}, los cuales incluyen la contribución del procedimiento de medición y del procesamiento de los datos.

Se conoce que para surfactantes de la misma serie homóloga, con una cadena hidrocarbonada lineal, y a una temperatura dada, la CMC se relaciona con el número de átomos de carbono de la cadena alifática (*n*) según la regla empírica de Stauff-Klevens [105]: $logCMC = A - Bn$, donde *A* y *B* son constantes. En el presente caso el gráfico de *logCMC vs. n* resulta en una línea recta con $A = 1.5 \pm 0.2$, $B = 0.30 \pm 0.01$, y un coeficiente de correlación de 0.9988 (ver Anexo A3). Estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura para esta serie homóloga [101,104,106].

Si se asume un comportamiento ideal, en una mezcla de surfactantes se deben formar micelas mixtas en disolución a un valor de concentración micelar crítica teórica que corresponde al valor medio entre las CMC de cada componente por separado, considerando su fracción molar en la mezcla. La concentración micelar crítica teórica (CMC*), puede ser determinada a partir de la ecuación de Clint [107]:

$$\frac{1}{CMC^*} = \sum_{1}^{n} \frac{\alpha_i}{CMC_i} \tag{3.4}$$

donde: α_i y CMC_i son la fracción molar estequiométrica (sin considerar al agua como componente de la mezcla), y la concentración micelar crítica de cada surfactante que compone la mezcla, respectivamente.

Si el valor de CMC determinado experimentalmente para una mezcla dada es inferior al valor de CMC*, esto indica que las micelas mixtas se forman por interacciones sinérgicas de los componentes de la mezcla, y si es superior, entonces las micelas mixtas se forman por interacciones antagónicas. Para el CB el valor de CMC* calculado es de 4.7 mmol L^{-1}, mientras que el valor de CMC determinado experimentalmente es de 1.6 mmol L^{-1}. El menor valor de CMC con respecto a

CMC* indica por tanto que la mezcla de CB no presenta un comportamiento ideal, y que las micelas mixtas se forman debido a interacciones sinérgicas entre los homólogos con diferente largo de cadena.

Para una serie homóloga de surfactantes, el grado de ionización de las micelas (α) aumenta y la energia libre de micelizacion (ΔG^{o}_{mic}) se hace cada vez más negativo con el incremento del largo de la cadena hidrocarbonada. En el caso que nos ocupa, tabla 3.2, esta tendencia no se observa debido a los valores anómalos de α y ΔG^{o}_{mic} obtenidos para los homólogos CB12 y CB16, respectivamente. El valor de ΔG^{o}_{mic} obtenido para el CB12 es consistente con los reportes de la literatura, mientras que el grado de ionización de la micela es mayor en comparación con el reportado por otros autores para este surfactante (0.44 [101,102,104]). Para el surfactante CB16 ninguno de los valores obtenidos concuerda con los reportados en la literatura (ΔG^{o}_{mic} = -46.9 kJ mol^{-1} y α = 0.40 [108], ΔG^{o}_{mic} = -43.7 kJ mol^{-1} y α = 0.48 [101,102,104], y ΔG^{o}_{mic} = -41.9 kJ mol^{-1} y α = 0.57 [99]). Sin embargo, es importante notar que los valores reportados por otros autores tampoco concuerdan entre ellos, a pesar de que se utilizó en todos los casos el mismo método de determinación y similares condiciones experimentales. Estas discrepancias pueden ser debidas a que pequeñas variaciones en la pendiente del gráfico de κ *vs*. C, cuando se pasa de la región pre-micelar a la post-micelar, pueden conducir a grandes cambios en α y consecuentemente en el ΔG^{o}_{mic}. La existencia de una segunda CMC observada para esta clase de surfactantes, no lejos de la primera, indica que tiene lugar una evolución de la estructura micelar más allá de la primera CMC [101]. Adicionalmente, algunas diferencias en el parámetro α pueden ser también debidas a la presencia de trazas de homólogos con diferente largo de cadena, ya que es muy difícil obtener homólogos totalmente puros de esta clase de compuestos.

Efecto de los fármacos en el proceso de micelización de los surfactantes

La presencia de compuestos orgánicos en disolución puede afectar el proceso de micelización de los surfactantes, lo que se manifiesta en cambios en diferentes parámetros, tales como CMC, α, y ΔG^{o}_{mic} [67,109-112]. Los resultados de las mediciones de conductividad específica en función de la concentración de surfactante a concentraciones fijas de sulfametoxazol, se presentan en la figura 3.3 y la tabla 3.3.

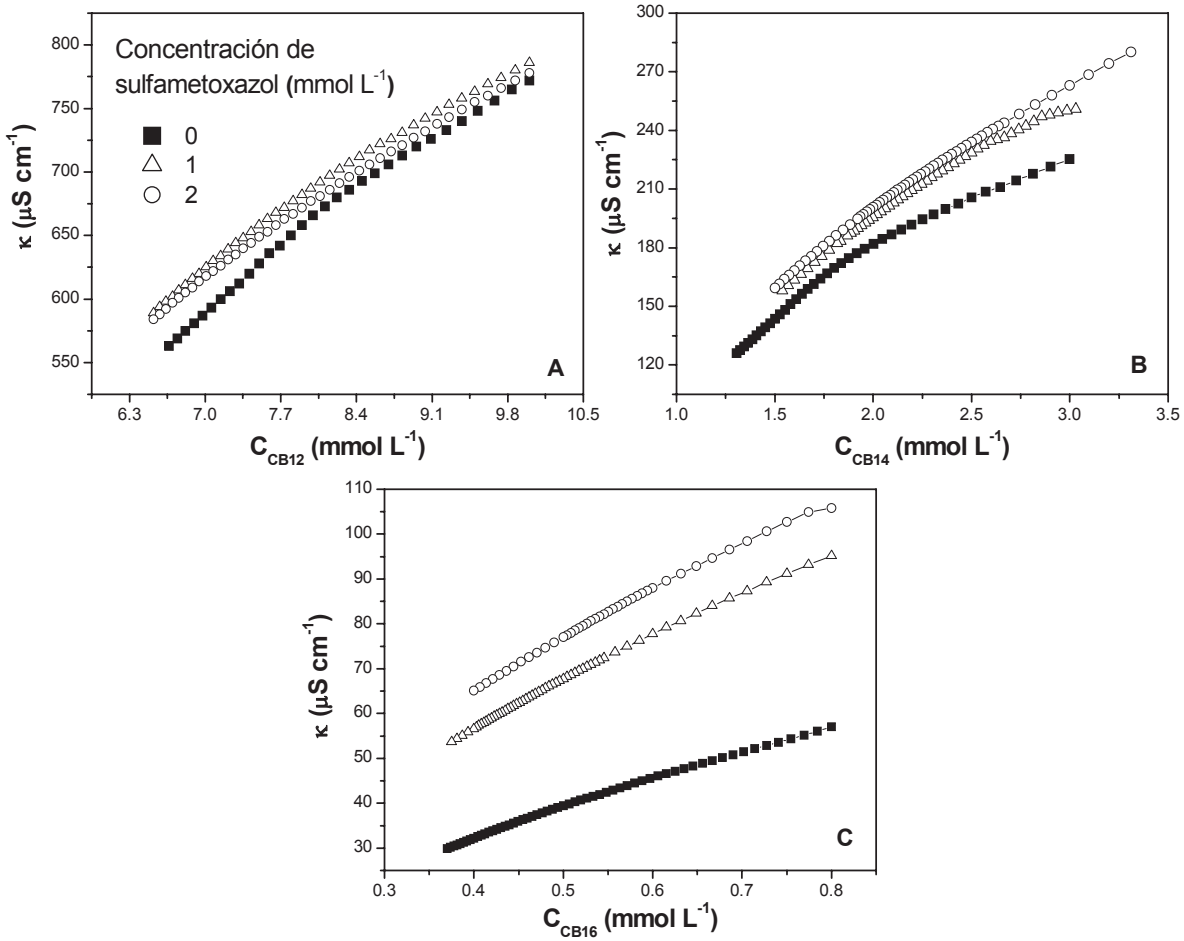


Figura 3.3 Efecto de la concentración de sulfametoxazol sobre la conductividad específica de disoluciones acuosas de CB12 (A), CB14 (B), y CB16 (C) a 298 K. El error en la conductividad específica es menor que el tamaño de los símbolos utilizados en los gráficos.

Tabla 3.3 Efecto de la adición de sulfametoxazol en la concentración micelar crítica (CMC), el grado de ionización (α), y la energía libre estándar de micelización (ΔG^{o}_{mic}) de los surfactantes a 298 K.

$C_{Sulfametoxazol}$ mmol L^{-1}	CB12			CB14			CB16		
	CMC mmol L^{-1}	α	ΔG^{o}_{mic} kJ mol^{-1}	CMC mmol L^{-1}	α	ΔG^{o}_{mic} kJ mol^{-1}	CMC mmol L^{-1}	α	ΔG^{o}_{mic} kJ mol^{-1}
0	8.19	0.67	-29.1	1.90	0.46	-39.3	0.52	0.74	-36.2
0.5	8.06	0.64	-29.8	2.13	0.45	-39.1	0.56	0.74	-35.9
1.0	7.96	0.65	-29.6	2.19	0.55	-36.4	0.56	0.75	-36.0
2.0	7.67	0.68	-29.1	2.40	0.60	-34.9	0.56	0.80	-34.2

Los errores en las magnitudes reportadas son: CMC ± 0.07 mmol L^{-1}, α ± 0.05, y ΔG^{o}_{mic} ± 0.1 kJ mol^{-1}, los cuales incluyen la contribución del procedimiento de medición y del procesamiento de los datos.

Como puede observarse, el sulfametoxazol afecta el proceso de micelización de los tres surfactantes estudiados, y este efecto depende de la concentración del fármaco y del largo de la cadena hidrocarbonada del surfactante. Para el surfactante CB14, y en menor medida el CB16, los valores de CMC y α aumentan con el incremento de la concentración de sulfametoxazol. Simultáneamente, el fenómeno de micelización se hace menos espontáneo con la adición del fármaco, como lo indican los valores menos negativos de ΔG^{o}_{mic}. Estas observaciones indican que el sulfametoxazol se solubiliza dentro de las micelas de CB14 y CB16. El incremento de la CMC sugiere además que el fármaco interacciona con las moléculas de surfactante estabilizando el estado monomérico.

En el caso del surfactante CB12, la CMC disminuye con el incremento de la concentración de sulfametoxazol, y no se aprecian cambios significativos en α y ΔG^{o}_{mic}. El fenómeno de solubilización del sulfametoxazol en este surfactante parece ser algo diferente del observado para el CB14 y el CB16. Tales diferencias pudieran estar relacionadas con los sitios de solubilización y el tamaño de las micelas en cada caso. Los surfactantes de cadena hidrocarbonada más larga forman micelas de mayor volumen, por lo que pueden acomodar mejor la molécula de fármaco solubilizada.

En la figura 3.4 se muestra el gráfico de conductividad específica en función de la concentración del surfactante CB12, en presencia de cantidades fijas de metronidazol. Como puede observarse no hay variaciones significativas en las curvas al aumentar la concentración del fármaco. Consecuentemente, no hay cambios importantes en los valores de CMC, α y ΔG^{o}_{mic} (ver tabla 3.4). Un comportamiento similar se obtuvo para los surfactantes CB14 y CB16. Estos resultados indican que el proceso de micelización de los surfactantes estudiados prácticamente no se afecta por la presencia del metronidazol, o lo que es lo mismo, el metronidazol no es solubilizado en las micelas, al menos bajo las condiciones experimentales empleadas en este trabajo. Es importante notar que para este fármaco se estudiaron concentraciones más altas que para el caso del sulfametoxazol, teniendo en cuenta su mayor solubilidad en agua. La exploración de un rango mayor de concentraciones permitió demostrar que el metronidazol no se solubiliza aún cuando se incrementa su concentración.

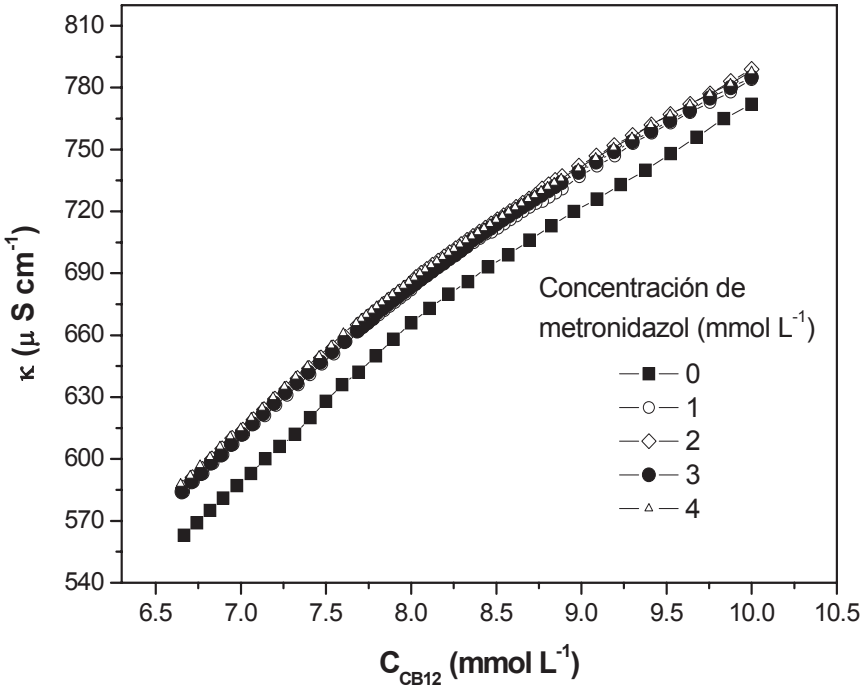


Figura 3.4 Efecto de la concentración de metronidazol en la conductividad específica de disoluciones acuosas de CB12 a 298 K. El error en la conductividad específica es menor que el tamaño de los símbolos utilizados en el gráfico.

Tabla 3.4 Efecto de la adición de metronidazol en la concentración micelar crítica (CMC), el grado de ionización (α), y la energía libre estándar de micelización (ΔG^{o}_{mic}) de los surfactantes a 298 K.

$C_{Metronidazol}$ mmol L^{-1}	CB12			CB14			CB16		
	CMC mmol L^{-1}	α	ΔG^{o}_{mic} kJ mol^{-1}	CMC mmol L^{-1}	α	ΔG^{o}_{mic} kJ mol^{-1}	CMC mmol L^{-1}	α	ΔG^{o}_{mic} kJ mol^{-1}
0	8.19	0.67	-29.1	1.90	0.46	-39.3	0.52	0.74	-36.2
1.0	8.20	0.59	-30.8	1.98	0.48	-38.6	0.53	0.71	-36.9
2.0	8.19	0.59	-30.8	1.98	0.49	-38.3	0.56	0.76	-35.3
3.0	8.19	0.59	-30.8	1.98	0.48	-38.6	0.54	0.73	-36.3
4.0	8.16	0.60	-30.6	2.01	0.50	-38.0	0.55	0.72	-36.5

Los errores en las magnitudes reportadas son: CMC ± 0.07 mmol L^{-1}, α ± 0.05, y ΔG^{o}_{mic} ± 0.1 kJ mol^{-1}, los cuales incluyen la contribución del procedimiento de medición y del procesamiento de los datos.

Las diferencias observadas entre ambos fármacos en cuanto a su solubilización en las micelas de los surfactantes estudiados son una consecuencia directa de sus diferentes estructuras químicas. La solubilización de un soluto en las micelas de un surfactante puede ser considerada como el reparto del mismo entre dos disolventes inmiscibles, el agua y el interior de las micelas, que se comporta

como un disolvente poco polar. El coeficiente de reparto, que es el cociente entre las concentraciones de un soluto en una mezcla bifásica formada por dos disolventes inmiscibles en equilibrio, da una medida de la solubilidad del soluto en esos dos disolventes. Los valores del coeficiente de reparto octanol/agua (K_{ow}) para los fármacos sulfametoxazol y metronidazol son 7.94 y 0.79, respectivamente [113]. O sea, el sulfametoxazol a diferencia del metronidazol, es marcadamente más soluble en el disolvente menos polar. Es de esperar un comportamiento análogo en el sistema micela de surfactante/agua. Este comportamiento es consistente con los resultados de estudios previos relacionados con la adsolubilización de estos fármacos en clinoptilolita natural modificada con cloruro de benzalconio [20], y también con estudios teóricos relacionados con la interacción de estos fármacos con un surfactante de la misma serie homóloga (CB10) [114].

3.3.2 Resonancia magnética nuclear del protón

La resonancia magnética nuclear (RMN) ha sido exitosamente empleada para estudiar la formación y las propiedades de sistemas micelares [115-117]. El desplazamiento químico del protón por ejemplo, parece ser muy sensible a interacciones y cambios sutiles en el ambiente local de unidades de surfactante y de moléculas de aditivos. Por debajo de la CMC, el ambiente promedio de los protones de la cadena del surfactante es acuoso. Por encima de la CMC la cadena hidrocarbonada reside mayormente en el interior de la micela, rodeada por un ambiente alifático, lo que provoca cambios en el desplazamiento químico observado [115]. Con el objetivo de obtener más información sobre los procesos de agregación micelar de los surfactantes y el efecto de la adición de fármacos en este fenómeno, se llevaron a cabo algunos experimentos de RMN ^{1}H para los surfactantes CB12 y CB14, considerando que son los componentes mayoritarios de la mezcla de CB. Para esto se registraron los espectros de tres series de disoluciones en agua deuterada para cada surfactante (ver detalles en epígrafe 2.2).

El efecto de la agregación micelar en el desplazamiento químico puede ser atribuido a la combinación de dos factores: (1) la sustitución de una parte considerable de las interacciones hidrocarburo/agua, en el estado monómero, por interacciones hidrocarburo/hidrocarburo en los agregados, y (2) los cambios conformacionales de las cadenas hidrocarbonadas. Ambos efectos conllevan a un corrimiento hacia campos bajos de las señales de RMN ^{1}H del surfactante micelizado [115]. La presencia de un anillo aromático afecta el desplazamiento químico debido a la anisotropía diamagnética, denominada comúnmente como *efecto de la corriente del anillo*, que es una consecuencia de su estructura conjugada. Las señales de RMN ^{1}H estarán más apantalladas (corridas

hacia altos campos) o menos apantalladas (corridas hacia bajos campos), dependiendo de la disposición promedio del anillo con respecto al segmento de surfactante analizado [118]. Esto permite conocer la orientación del anillo aromático en los agregados de surfactante.

En la figura 3.5 se presentan los espectros RMN ^{1}H de disoluciones de CB12 a concentraciones por debajo y por encima de su CMC (2 y 16 mmol L^{-1}), así como la fórmula estructural y la asignación de las señales.

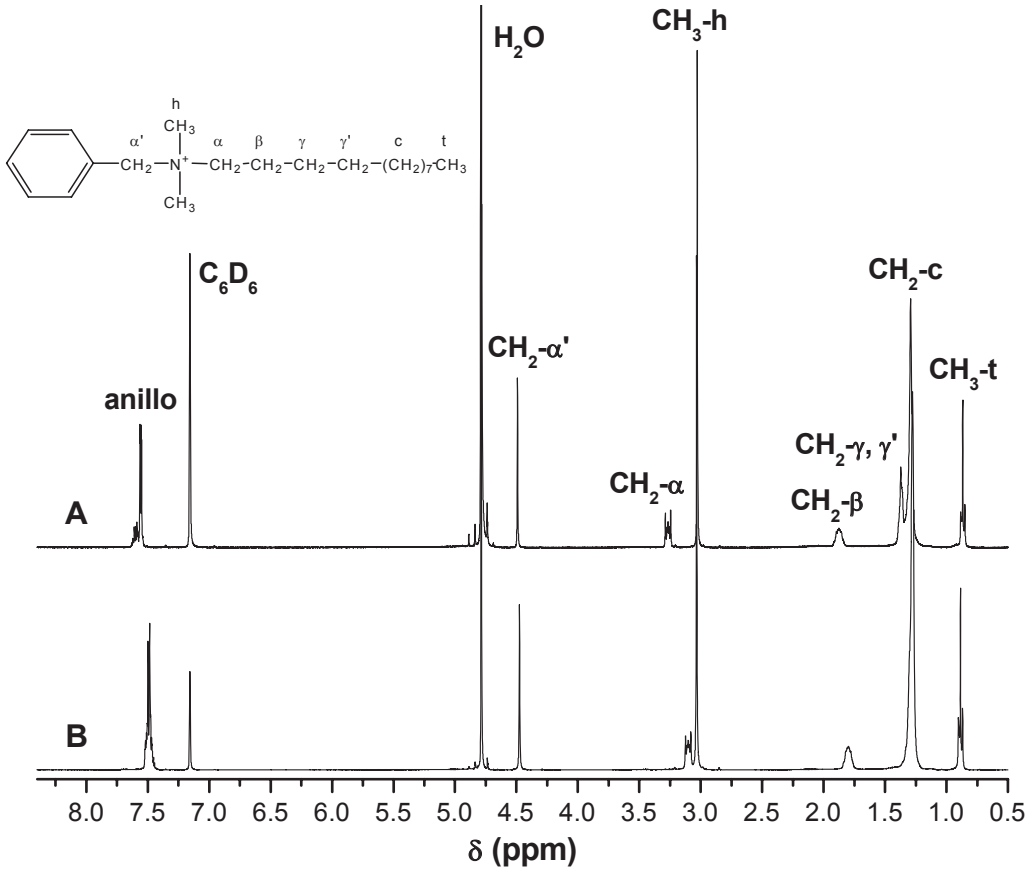


Figura 3.5 Fórmula estructural del CB12, espectros RMN ^{1}H y asignación de las señales para disoluciones de CB12 a concentraciones por debajo (A) y por encima (B) de la CMC.

Con relación a la cadena hidrocarbonada, es posible diferenciar las señales correspondientes a los grupos CH_2-α, CH_2-β y CH_3-t. Los otros nueve grupos metilenos de la cadena alifática dan dos señales, cuya deconvolución e integración revelan una señal a 1.37 ppm que corresponde a dos grupos CH_2, y una señal a 1.29 ppm (CH_2-c) que corresponde a siete grupos CH_2. La señal menos apantallada se asignó a los grupos CH_2-γ y CH2-γ', porque son los que se encuentran más próximos al grupo cabeza polar del surfactante, en particular, al átomo de nitrógeno con carga positiva, y la señal más apantallada se asignó al resto de los protones de los grupos metileno de la cadena (CH_2-c).

En el presente estudio no se harán distinciones entre los protones *orto*, *meta* y *para* del anillo aromático de la molécula, ya que resulta muy difícil seguir las variaciones en sus desplazamientos químicos en función de la concentración de surfactante. Esto se debe fundamentalmente al solapamiento entre las diferentes señales que tiene lugar a concentraciones próximas y mayores a la CMC.

En la figura 3.6 se muestran segmentos seleccionados de los espectros RMN ^{1}H presentados en la figura 3.5, donde se pueden apreciar con más claridad las variaciones que tienen lugar en el desplazamiento químico de cada una de las señales antes y después de la CMC. Los espectros de todas las disoluciones estudiadas de CB12 se presentan en el Anexo A4.

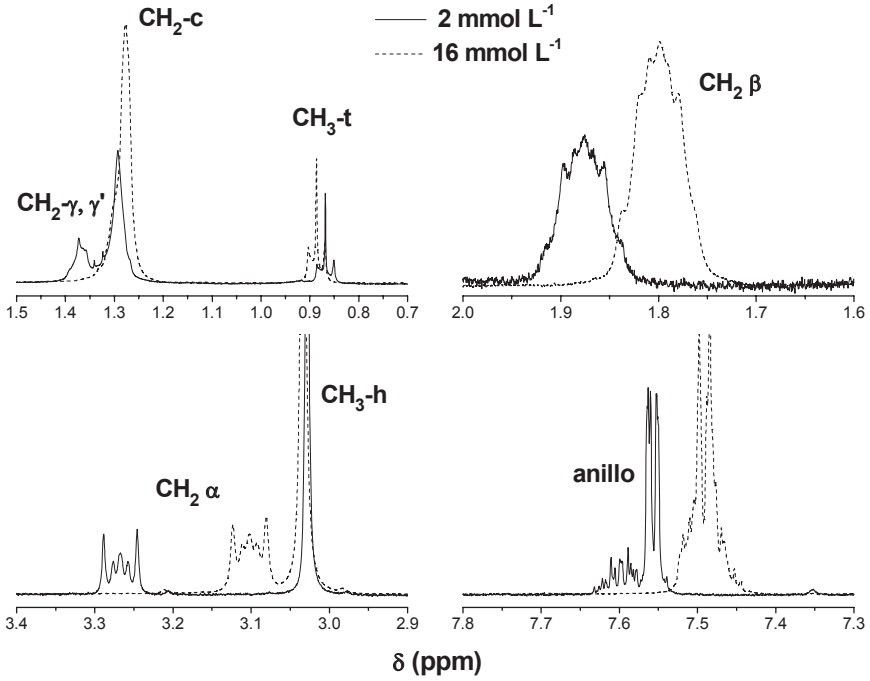


Figura 3.6 Fragmentos seleccionados de los espectros RMN ^{1}H de disoluciones de CB12 a concentraciones por debajo y por encima de la CMC.

La comparación de los espectros de los surfactantes registrados a concentraciones por debajo y por encima de la CMC permite constatar que las señales correspondientes a los primeros grupos metileno de la cadena hidrocarbonada, CH_2-α, CH_2-β, CH_2-γ y CH2-γ', se apantallan a concentraciones por encima de la CMC. Esto sólo puede ser debido al efecto de la corriente del anillo, lo que indica que el anillo bencénico *se pliega* hacia el interior de la micela, comportándose como una segunda cadena hidrocarbonada. La afirmación anterior es sustentada además por la poca variación en el desplazamiento químico de los protones del grupo CH_2-α', cuando el surfactante pasa a formar parte de la micela. Cuando el anillo aromático se pliega la molécula de surfactante

adquiere una conformación tal que estos protones (CH_2-α') quedan ubicados en el exterior de la micela, rodeados por moléculas de agua. Por este motivo su ambiente local no cambia de forma apreciable como resultado de la micelización. Este resultado es asimismo soportado por estudios teóricos de simulación computacional relacionados con el proceso de agregación del surfactante CB12 en medio acuoso [119]. Estos estudios teóricos mostraron que la molécula de CB12 puede adoptar varias configuraciones en su estado monomérico. Sin embargo, cuando la molécula de surfactante forma parte de un agregado, la configuración más probable es aquella donde el anillo aromático se dobla hacia su interior, como se muestra en la figura 3.7 [119]. Adicionalmente, el doblaje del anillo aromático ha sido también reportado para surfactantes de la misma familia, y para otros surfactantes con grupos aromáticos en la cabeza polar [118,120,121].



Figura 3.7 Diferentes conformaciones de la molécula de CB12 en estado monómero, y en un agregado formado por diez moléculas, según los resultados de simulación computacional [119].

El espectro RMN ^{1}H del surfactante CB14 es muy similar al de su homólogo CB12, sólo existen pequeñas diferencias en los desplazamientos químicos de algunas señales (ver espectros en el Anexo A5). Al igual que para el caso del CB12, se realizó la deconvolución e integración de las dos señales asociadas a los protones de la cadena hidrocarbonada (once grupos metileno). En este caso la señal a 1.35 ppm, que integra seis protones (tres grupos CH_2), fue asignada a los grupos CH_2-γ, CH_2-γ' y CH_2-γ'', y la señal a 1.28 ppm, que integra dieciséis protones (ocho grupos CH_2), fue asignada al resto de los protones de la cadena (CH_2-c).

Se ha reportado en la literatura que el desplazamiento químico de RMN de varios núcleos, en función de la concentración de surfactante, puede ser usado para determinar la concentración micelar crítica [116-118]. Según el modelo de pseudo fase, la CMC es considerada como un punto de transición entre los estados monómero y micela del surfactante. Como consecuencia, no hay agregación a concentraciones inferiores a la CMC, y el desplazamiento químico observado corresponde al desplazamiento químico del monómero. A concentraciones superiores a la CMC coexisten en disolución los monómeros y las micelas. En este caso, si asumimos que el intercambio de los monómeros de surfactante entre la disolución y la micela es más rápido que la escala de tiempo de la RMN, el desplazamiento químico observado es la suma ponderada de los desplazamientos químicos del monómero y la micela, y puede ser escrito como [115]:

$$\delta_{obs} = \delta_{mon} \frac{C_{mon}}{C} + \delta_{mic} \frac{C - C_{mon}}{C} \tag{3.5}$$

donde: δ_{obs} es el desplazamiento químico observado, δ_{mon} y δ_{mic} son los desplazamientos químicos del monómero y la micela, respectivamente, C_{mon} es la concentración de monómeros y C es la concentración total de surfactante en disolución.

A concentraciones de surfactante mayores que la CMC, la concentración de monómero permanece prácticamente constante e igual a la CMC. Luego, la ecuación (3.6) puede rescribirse como sigue:

$$\delta_{obs} = \delta_{mic} - \left(\frac{CMC}{C} \right) (\delta_{mic} - \delta_{mon}) \tag{3.6}$$

Así, la CMC puede ser determinada del gráfico de δ_{obs} *vs.* 1/C. El valor de CMC obtenido de esta forma puede diferir según la señal analizada, ya que todos los grupos de la molécula de surfactante no son igualmente sensibles al proceso de micelización. Por tal motivo, la determinación de la CMC se realiza para diferentes grupos protónicos de la molécula de surfactante y lo que se reporta es el valor promedio de esta magnitud.

En la figura 3.8 se presentan los gráficos de la dependencia del desplazamiento químico con el inverso de la concentración para cada señal de RMN ^{1}H de los surfactantes CB12 y CB14. Para ambos surfactantes la señal que más variaciones presenta en su desplazamiento químico, como resultado de la agregación micelar, es la correspondiente al grupo CH_2-α, seguida por las señales de los grupos CH_2-β, CH_2-γ, CH_2-γ', CH_2-γ'', y las señales del anillo. El resto de los picos muestra sólo pequeñas variaciones en su desplazamiento químico después de la micelización, lo que significa que el ambiente local de estos protones no experimenta cambios significativos cuando pasan de la fase

acuosa a la micela. Es importante notar que los protones del grupo CH_2-c se apantallan cuando el CB12 pasa del estado monómero a la micela, mientras que ocurre lo contrario para el CB14. Esto puede ser debido a que los protones CH_2-c en el CB14 no perciben el efecto de la corriente del anillo, dada la mayor longitud de la cadena.

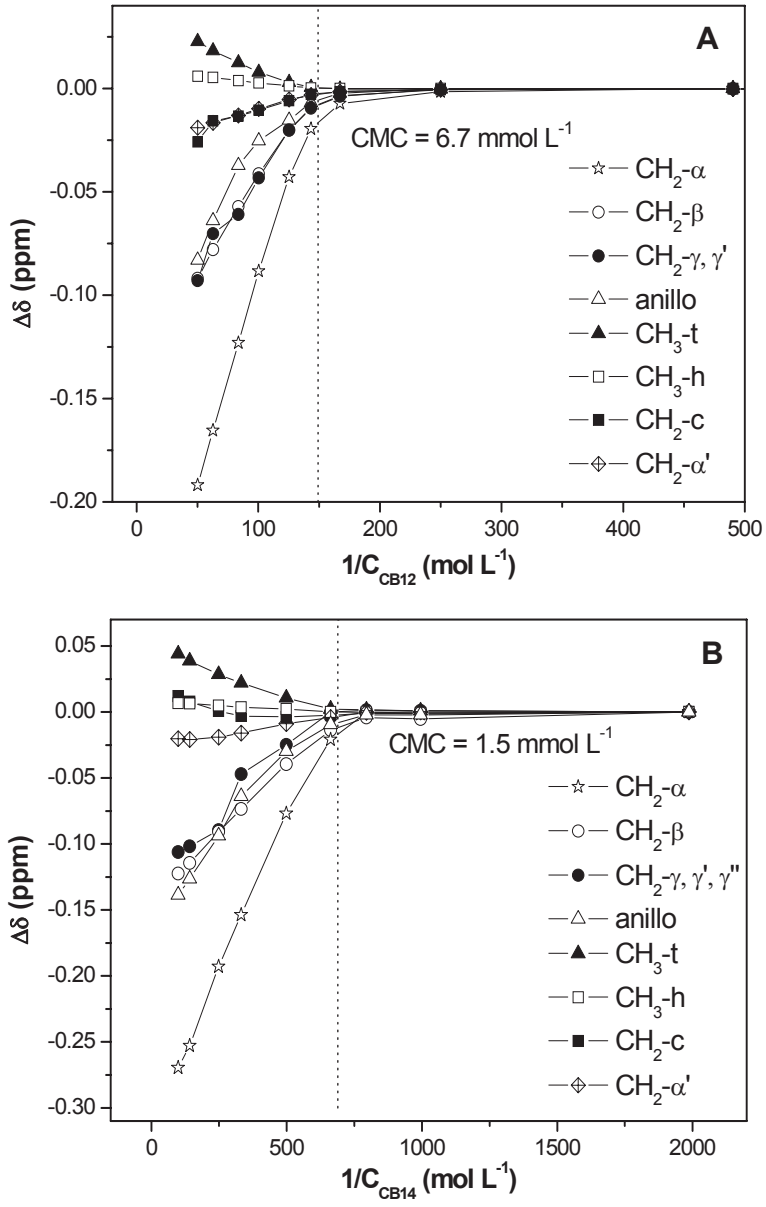


Figura 3.8 Variación en los desplazamientos químicos de los protones con el inverso de la concentración de CB12 (A) y CB14 (B). $\Delta\delta = \delta_{obs}-\delta_x$, donde δ_{obs} es el desplazamiento químico observado a una concentración dada y δ_x es el desplazamiento químico observado a la menor concentración estudiada. El error en el desplazamiento químico es inferior al tamaño de los símbolos utilizados para los puntos experimentales.

Los valores de CMC determinados a partir de cada señal protónica se recogen en la tabla 3.5. El valor promedio de la CMC obtenido para el CB12 es de 6.7 ± 0.2 mmol L^{-1}, alrededor de un 18 % menor que el determinado a través de las mediciones de conductividad específica (8.19 mmol L^{-1}). Para el surfactante CB14 se obtuvo un valor de CMC de 1.5 ± 0.1 mmol L^{-1}, 21 % menor que el obtenido a partir de las mediciones de conductividad específica (1.90 mmol L^{-1}). Estas diferencias están relacionadas con el hecho de que en los experimentos de RMN ^1H se emplea el agua deuterada (D_2O) como disolvente, y se conoce que la tendencia a la agregación micelar es mayor en D_2O que en H_2O, debido a que el primero es un líquido mejor estructurado [118]. Además, existen evidencias de que las interacciones hidrofóbicas en disoluciones de surfactantes son un poco más fuertes en D_2O que en H_2O [122,123]. Lo anterior se ha corroborado por el incremento que tiene lugar en el número de agregación (número de moléculas de surfactante por micela) en disoluciones de agua deuterada. En este contexto, se han reportado en la literatura disminuciones de alrededor de un 20 % en la CMC determinada por RMN con respecto a la determinada por otras técnicas, para diferentes surfactantes [116,118,121,124,125].

Tabla 3.5 Valores de concentración micelar crítica determinados por RMN ^1H a partir de las variaciones en el desplazamiento químico de las señales de los surfactantes CB12 y CB14.

Señal	**CMC**	
	CB12	**CB14**
CH_2-α	6.7	1.5
CH_2-β	6.7	1.5
CH_2-γ, γ' o CH_2-γ, γ' γ''	6.6	1.6
CH_2-c	6.4	--
CH_3-t	7.1	1.6
CH_2-α'	6.4	1.3
CH_3-h	6.8	1.4
anillo	6.8	1.4
CMC promedio	**6.7 ± 0.2**	**1.5 ± 0.1**

Efecto del fármaco en el proceso de micelización de los surfactantes

En la figura 3.9 se presenta el gráfico de desplazamiento químico de las señales de RMN ^1H del CB12 en función de la concentración de sulfametoxazol, a una concentración constante del surfactante de 12 mmol L^{-1}. Un gráfico similar se obtuvo para el caso de disoluciones de

concentraciones constante de CB14 (3 mmol L^{-1}) y diferentes concentraciones de sulfametoxazol (ver Anexo A6). Debe señalarse que se trabajó a concentraciones de surfactante por encima de sus valores de CMC para garantizar la existencia de micelas en disolución.

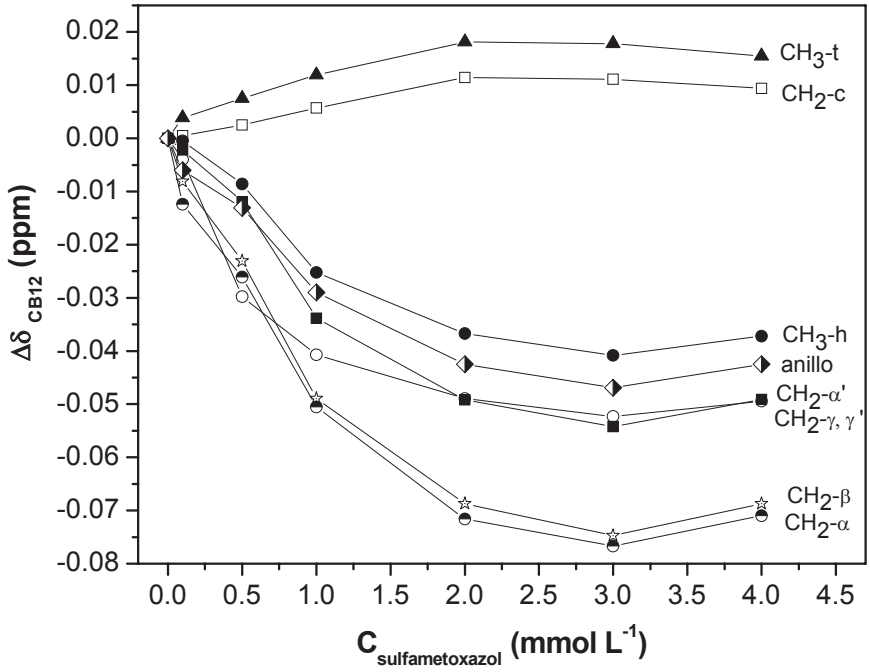


Figura 3.9 Variación en los desplazamientos químicos de los protones del CB12 en función de la concentración de sulfametoxazol. Δδ es la diferencia entre el desplazamiento químico observado a una concentración dada de sulfametoxazol y el observado para el surfactante solo. El error en el desplazamiento químico es inferior al tamaño de los símbolos utilizados para los puntos experimentales.

Como puede observarse en la figura 3.9, todas las señales correspondientes a la cabeza polar del surfactante, y las señales de los grupos CH_2-α, CH_2-β y CH_2- γ,γ' se corren a altos campos en presencia del fármaco, mientras que las señales correspondientes a los grupos CH_3-t y CH_2-c, se corren a valores de campo más bajos. Este comportamiento, que se debe a las interacciones entre el surfactante y el fármaco durante su proceso de solubilización, demuestra que la molécula de sulfametoxazol se ubica en la región centro exterior de la micela. Es interesante notar además que no hay cambios significativos en el desplazamiento químico de las señales de los surfactantes cuando la concentración de sulfametoxazol se incrementa más allá de 2 mmol L^{-1}, sugieriendo que las micelas se "saturan", o sea, que no son capaces de solubilizar más sulfametoxazol.

Las dos señales más intensas del anillo aromático del surfactante, que aparecen a 7.51 y 7.50 ppm, se solapan a concentraciones de sulfametoxazol mayores que 1 mmol L^{-1}. Para estas señales Δδ se

hace menos importante cuando la concentración del fármaco aumenta. Contrario al comportamiento observado para la micelización de los surfactantes (ver figura 3.8 A y B), la señal correspondiente al grupo CH_2-α' varía considerablemente debido a la presencia del fármaco, lo que demuestra que cambia el entorno de estos protones debido a la presencia de la molécula de sulfametoxazol. Las variaciones que tienen lugar en las señales del anillo bencénico y del grupo CH_2-α' sugieren que ocurren cambios conformacionales en esta región de la molécula inducidos por la presencia de la molécula de sulfametoxazol. Una posible explicación es que cuando la molécula de sulfametoxazol se solubiliza provoca que el anillo bencénico salga fuera de la micela y por tanto los protones del grupo CH_2-α' quedan orientados hacia el interior, como se representa de forma esquemática en la figura 3.10 B.

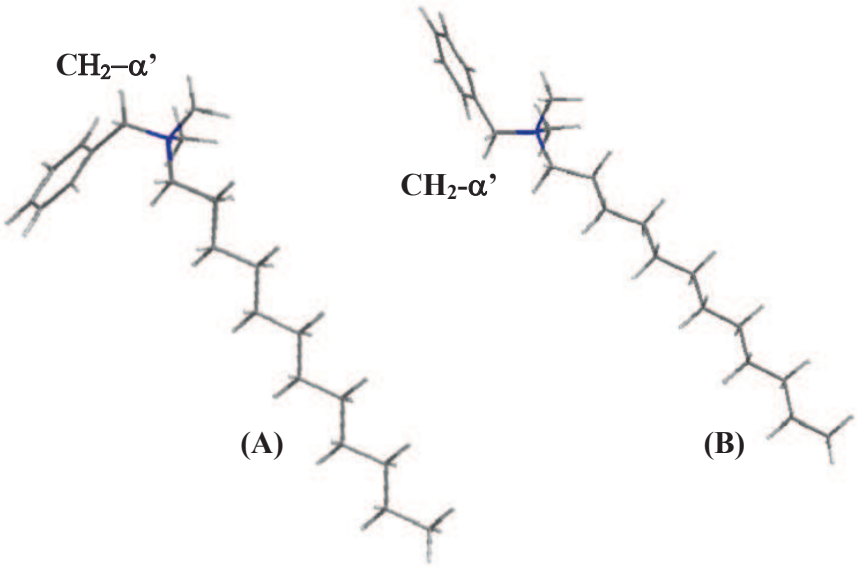


Figura 3.10 Dos conformaciones diferentes de la región del anillo aromático de la molécula de CB12. En ausencia de sulfametoxazol los protones del grupo CH_2-α' están orientados hacia el exterior de la micela y el anillo aromático hacia el interior (A) y en presencia de sulfametoxazol ocurre lo contrario (B).

Las señales de los grupos CH_2- γ,γ' o CH_2-γ,γ',γ'' y CH_2-c de la cadena hidrocarbonada sufren cambios significativos en su desplazamiento químico y en su intensidad con el aumento de la concentración de sulfametoxazol. Este comportamiento se muestra en las figuras 3.11 y 3.12, para el CB12 y CB14, respectivamente (los espectros completos de las disoluciones mixtas de CB12 y sulfametoxazol se presentan en el Anexo A7). En particular, las variaciones que ocurren en las intensidades de estas señales indican que se afecta o cambia el ambiente local de un número cada vez mayor de grupos CH_2 en función del incremento en la concentración de sulfametoxazol, lo que

se debe a que la molécula del fármaco penetra más profundamente dentro de la micela al aumentar su concentración. Este resultado es coherente con lo reportado en la literatura para la solubilización de hidrocarburos polarizables tales como benceno, tolueno y fenol, entre otros, en micelas de surfactantes catiónicos [63,124]. Se conoce que los mismos se solubilizan inicialmente en la superficie de las micelas, reemplazando moléculas de agua que pueden haber penetrado en la región centro exterior. Esta ubicación se debe a la polarizabilidad de la nube de electrones π de los anillos aromáticos y su consecuente posibilidad de interactuar con la carga positiva de la cabeza del surfactante en la interfase micela/agua. Sin embargo, al aumentar la concentración en disolución de las moléculas solubilizadas, éstas penetran más profundamente en las micelas, ubicándose en la región de la empalizada o en la región centro interior [63].

Por otra parte, las diferencias existentes entre los dos surfactantes con relación al comportamiento de las señales CH_2- γ,γ' o CH_2-γ,γ',γ'' y CH_2-c pueden ser debidas a que el sitio de solubilización de la molécula de sulfametoxazol es diferente en cada caso. Teniendo en cuenta el mayor tamaño de la micela del CB14 es muy probable que para este surfactante el fármaco se ubique más hacia el centro de la micela, lo que explicaría el incremento de la CMC observado al aumentar la concentración de fármaco, según los experimentos de conductividad específica (ver epígrafe 3.3.1).

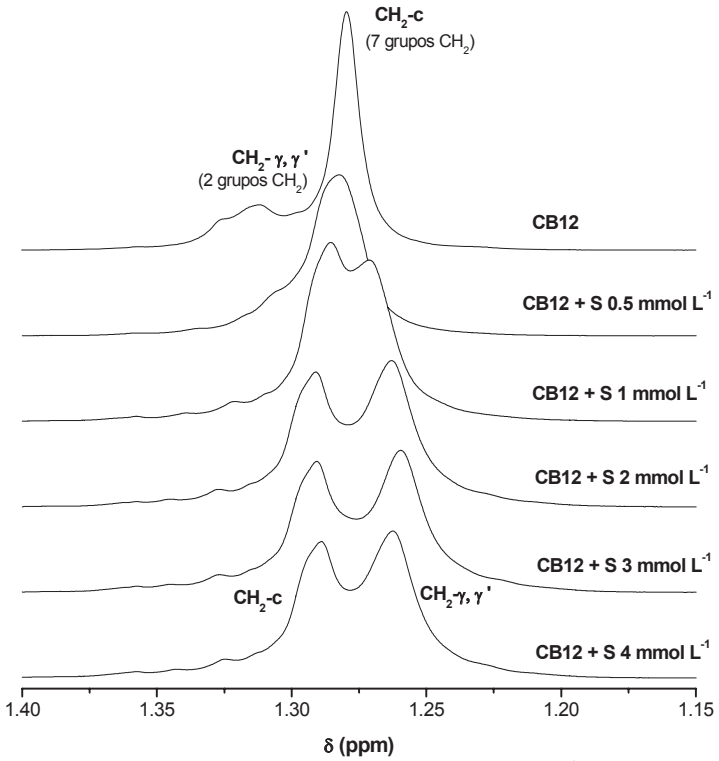


Figura 3.11 Fragmentos seleccionados de los espectros de RMN ^{1}H donde se muestran las señales CH_2-γ,γ' y CH_2-c del surfactante CB12, en función de la concentración de sulfametoxazol.

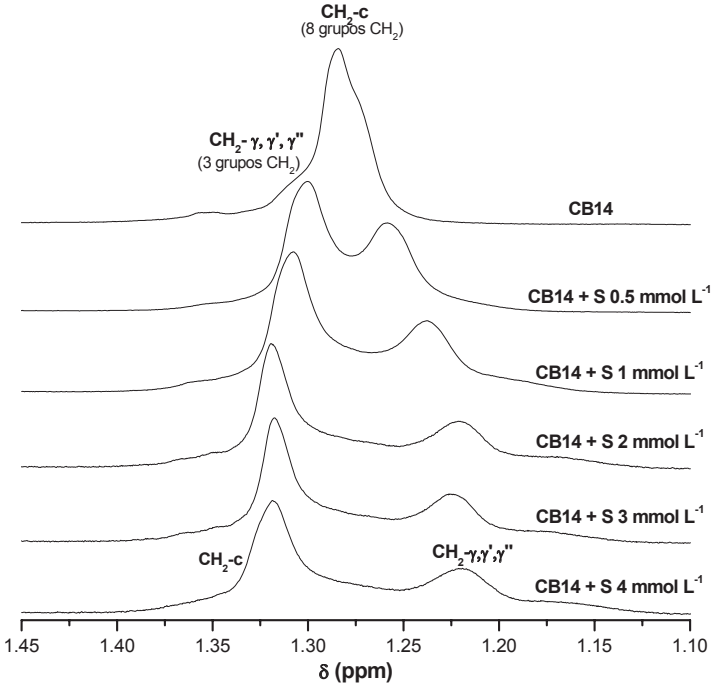


Figura 3.12 Fragmentos seleccionados de los espectros de RMN ^{1}H donde se muestran las señales CH_2-γ,γ',γ'' y CH_2-c del surfactante CB14, en función de la concentración de sulfametoxazol.

En la figura 3.13 se presenta el espectro RMN ^{1}H del sulfametoxazol, conjuntamente con la fórmula estructural de la molécula y la asignación de las señales. La señal más apantallada, que integra tres protones y aparece a 2.23 ppm, fue asignada al grupo CH_3. La señal a 5.91 ppm se asignó al protón Ha, y las señales menos apantalladas, que aparecen a 6.80 y 7.62 ppm, se asignaron a los protones del anillo bencénico Hc y Hb, respectivamente. En este último caso se tuvo en cuenta que el protón en posición *orto* con respecto al grupo sulfónico (Hb), está menos apantallado que el que se encuentra en posición *orto* con respecto al grupo amino (Hc). Estas últimas señales aparecen como un doblete de tripletes debido a los acoplamientos a tres y cinco enlaces entre los protones Hc y Hb.

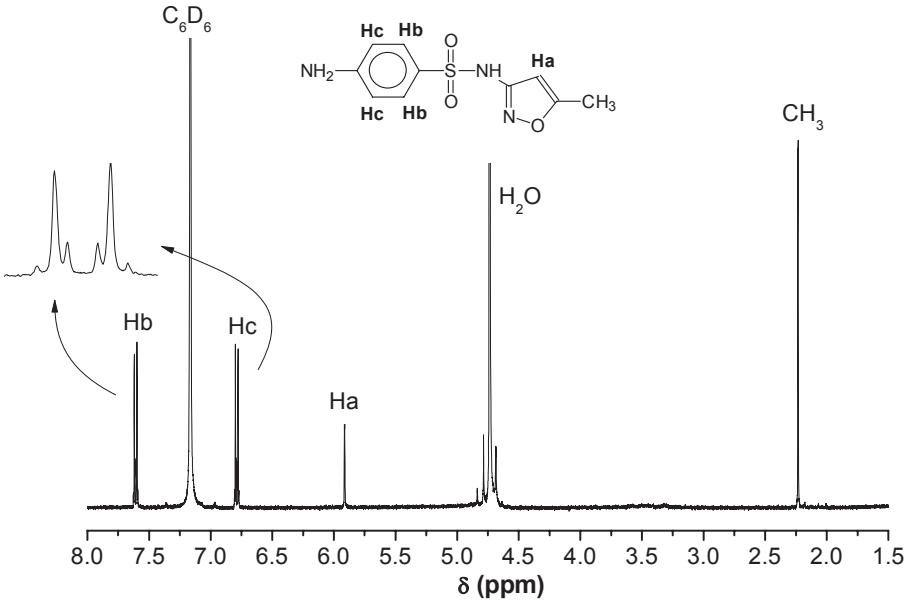


Figura 3.13 Espectro RMN ^{1}H del sulfametoxazol, fórmula estructural de la molécula y asignación de las señales.

Las variaciones en el desplazamiento químico de las señales del sulfametoxazol con el incremento de la concentración de los surfactantes CB12 y CB14 se muestran en la figura 3.14. Como puede observarse, el desplazamiento químico de los diferentes protones del sulfametoxazol cambia linealmente con el incremento en la concentración de los surfactantes, en todo el rango de concentraciones estudiado. Para cada señal del fármaco se pueden identificar dos tramos rectos que se interceptan a un valor ligeramente superior al valor de CMC del surfactante determinado por RMN ^{1}H. Esto indica que la molécula de sulfametoxazol interactúa con ambos, monómeros y micelas. Las variaciones en el desplazamiento químico de las diferentes señales son más pronunciadas a concentraciones de surfactante inferiores a su CMC. La diferencia en las pendientes de las rectas por debajo y por encima de la CMC puede ser explicada teniendo en cuenta las diferentes probabilidades de interacción del sulfametoxazol con el surfactante en su estado monómero y en forma de micela.

Las señales correspondientes a los protones Hb, Hc, y al grupo CH_3 se corren a altos campos, mientras que la señal asignada al protón Ha se corre a bajos campos, cuando el sulfametoxazol interactúa con ambos surfactantes (figura 3.14). Este resultado indica que el fármaco pudiera estar localizado en la región centro exterior de las micelas, cerca del anillo aromático de los surfactantes. El corrimiento a bajos campos de la señal del protón Ha es probablemente debido a la presencia del

nitrógeno con carga positiva en su vecindad, el cual se comporta como un grupo que atrae electrones.

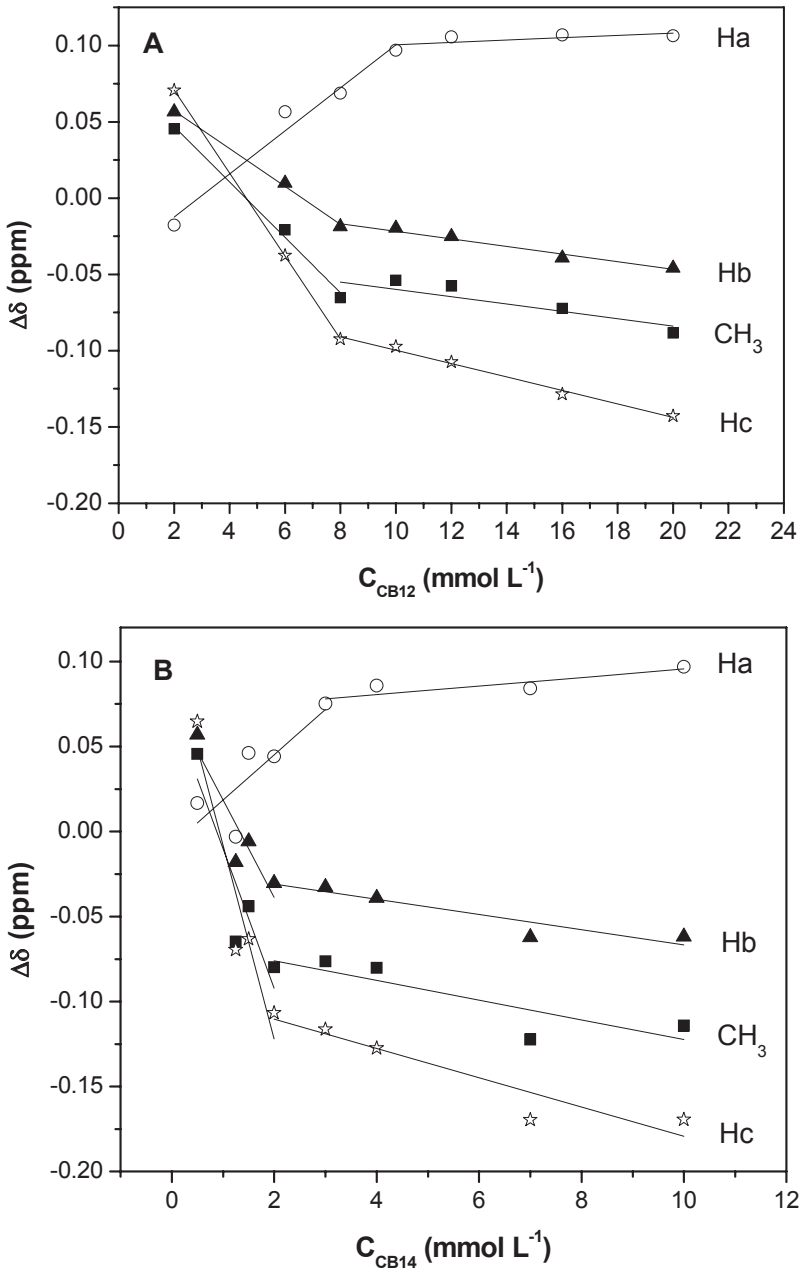


Figura 3.14 Variación en el desplazamiento químico de los protones del sulfametoxazol (concentración constante de 2 mmol L^{-1}) en función de la concentración de CB12 (A) y CB14 (B). Δδ es la diferencia entre el desplazamiento químico a una concentración dada de surfactante y el desplazamiento químico en ausencia de surfactante. Las barras de error son inferiores al tamaño de los símbolos utilizados.

Es interesante notar también que las pendientes de las rectas para cada protón del sulfametoxazol, en la región post-micelar, son prácticamente idénticas para los dos surfactantes estudiados. Sin embargo, antes de la CMC las variaciones en las señales de los protones del sulfametoxazol, en función de la concentración del surfactante, son más pronunciadas para el caso del CB14. Esto está indicando que el CB14 en su estado monómero interactúa más fuertemente con la molécula de fármaco, afectando el ambiente local de los diferentes grupos protónicos de la molécula de sulfametoxazol de forma más acentuada que su homólogo CB12. Para ambos surfactantes el intercepto en la curva correspondiente al protón Ha se encuentra a un valor de concentración de surfactante superior con respecto a las otras señales (ver figura 3.14). Esto puede ser debido a diferentes distancias de interacción entre los protones del sulfametoxazol y las micelas de los surfactantes, en función de la concentración de estos últimos.

En la figura 3.15 se muestra una representación esquemática de una molécula de sulfametoxazol solubilizada en una porción de una micela del surfactante CB12. En este sentido, algunos estudios teóricos de simulación computacional se están llevando a cabo [119].

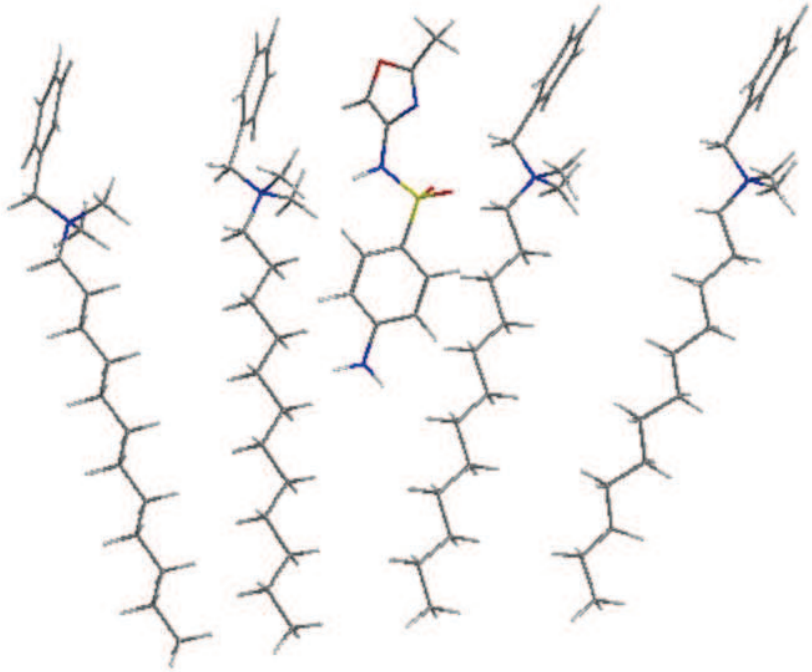


Figura 3.15 Esquema representativo de una molécula de sulfametoxazol solubilizada en una porción de una micela de CB12.

La comparación entre los espectros de disoluciones de CB12 en ausencia y en presencia de metronidazol, a una concentración de 2 mmol L^{-1}, indica que la adición de este fármaco al sistema no afecta el desplazamiento químico de las señales del surfactante. Sin embargo, las señales de los

protones del metronidazol están ligeramente menos apantalladas a concentraciones de CB12 inferiores a su CMC y más apantalladas a concentraciones superiores a la CMC, con respecto al espectro del metronidazol solo (figura 3.16). Este efecto es más marcado para el grupo CH_3 de la molécula del fármaco.

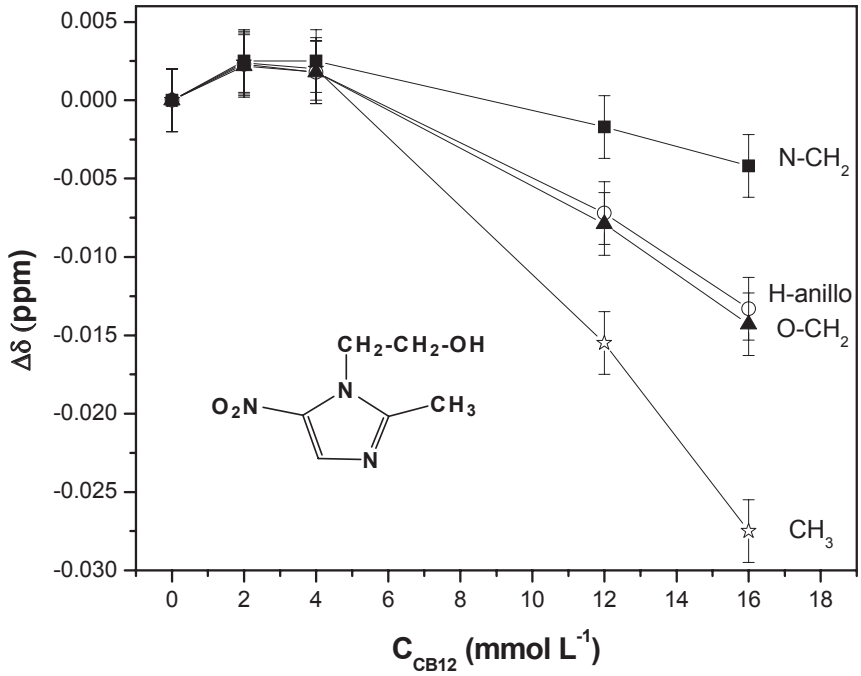


Figura 3.16 Variación en el desplazamiento químico de los protones del metronidazol (concentración constante de 2 mmol L^{-1}) en función de la concentración de CB12. $\Delta\delta$ es la diferencia entre el desplazamiento químico a una concentración dada de surfactante y el desplazamiento químico en ausencia de surfactante.

Las variaciones en el desplazamiento químico de las diferentes señales del metronidazol en función de la concentración de CB12, aunque son bien pequeñas, indican que existe algún tipo de interacción entre ambas moléculas. Dichas interacciones no parecen afectar el proceso de micelización del surfactante, lo que corrobora los resultados obtenidos por conductividad específica (ver epígrafe 3.3.1). Es importante hacer notar que las variaciones en el desplazamiento químico en este caso son mucho menores que las observadas para el caso del sulfametoxazol (ver figura 3.14).

3.3.3 Microcalorimetría de titulación isotérmica

El surfactante CB12 y el fármaco sulfametoxazol fueron seleccionados para realizar los estudios de microcalorimetría de titulación isotérmica, basados en los resultados de los estudios previos

presentados en este capítulo, y considerando que el CB12 es el componente mayoritario del surfactante cloruro de benzalconio.

En la figura 3.17 se presenta el gráfico de la variación de entalpía de dilución acumulativa del CB12 en función de su concentración, en ausencia y en presencia de sulfametoxazol. La entalpía estándar de micelización (ΔH^o_{mic}) se determinó de la diferencia entre las pendientes de las rectas de las regiones post- y pre-micelar, mientras que el valor de la CMC se obtuvo del intercepto entre estas rectas. Los valores determinados de ambas magnitudes se muestran en la tabla 3.6.

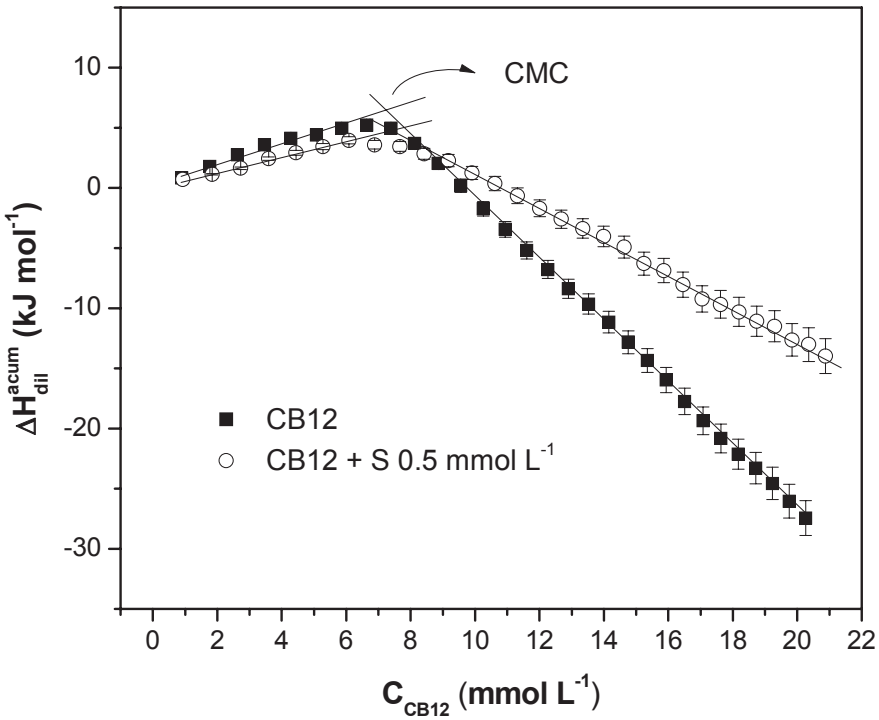


Figura 3.17 Variación de entalpía de dilución acumulativa del proceso de micelización del surfactante CB12 a 298 K, en ausencia y en presencia de sulfametoxazol a una concentración de 0.5 mmol L^{-1}.

Tabla 3.6 CMC y parámetros termodinámicos del proceso de micelización del surfactante CB12, en ausencia y en presencia de sulfametoxazol a una concentración de 0.5 mmol L^{-1}.

Sistema	CMC (mmol L^{-1})	ΔH^o_{mic} (kJ mol^{-1})	ΔG^o_{mic} (kJ mol^{-1}) *	$T\Delta S^o_{mic}$ (kJ mol^{-1}) †
CB12	7.2	-3.37	-29.1	25.7
CB12-S-0.5	7.3	-2.01	-29.8	27.8

* Determinado a partir de los experimentos de conductividad específica (ver epígrafe 3.3.1)

† Determinada a partir de la ecuación de Gibbs: $\Delta G^o_{mic} = \Delta H^o{}_{mic} - T\Delta S^o{}_{mic}$

El valor determinado del ΔH^{o}_{mic} indica que el proceso de micelización del CB12 es ligeramente exotérmico. En la literatura se reportan valores de ΔH^{o}_{mic} para este surfactante de: -1.6 kJ mol^{-1} [126], 1.1 kJ mol^{-1} [127], 2.05 kJ mol^{-1} [128], y 2.4 kJ mol^{-1} [129]. Como puede notarse, estos valores difieren notablemente entre ellos, aún los reportados por el mismo grupo de autores en diferentes publicaciones (1.1 y 2.4 kJ mol^{-1} [127,129]). Al igual que en nuestro caso, los ΔH^{o}_{mic} reportados en la literatura son pequeños, lo cual es consistente con el hecho de que este surfactante tiene una cadena hidrocarbonada corta.

Como puede observarse de los valores reportados en la tabla 3.6, la contribución del ΔH^{o}_{mic} a la energía libre de Gibbs es mucho menor que la de $T\Delta S^{o}_{mic}$, o sea, que la formación de micelas de CB12 a la temperatura estudiada, es un proceso controlado por el factor entrópico. Lo anterior ha sido reportado en la literatura para este surfactante y otros de su serie homóloga [128]. Esto puede ser entendido en términos de la ganancia en entropía del sistema cuando se forma la micela, ya que disminuye el "área superficial hidrófoba" que está expuesta al agua. La transferencia de la molécula de monómero desde el medio acuoso hacia el interior de la micela (medio orgánico) provoca la deshidratación de la cadena alquílica, resultando en una mayor flexibilidad y aumentando así la entropía. Adicionalmente, cambia la hidratación del grupo cabeza polar cuando éste se incorpora a la micela, lo cual es una consecuencia de la asociación y condensación de los contra-iones [63].

Teniendo en cuenta las limitaciones para determinar con precisión la CMC mediante microcalorimetría para este surfactante, podemos considerar que no hay diferencias significativas entre los valores de CMC en ausencia y en presencia del sulfametoxazol (a la concentración estudiada). Sin embargo, podemos decir que la presencia de sulfametoxazol en el medio acuoso afecta ligeramente el proceso de micelización del CB12, haciéndolo menos exotérmico, al mismo tiempo que aumenta la entropía del sistema, como puede comprobarse si se comparan los valores de ΔH^{o}_{mic} y $T\Delta S^{o}_{mic}$ en ambos casos (ver tabla 3.6).

3.4 Conclusiones del capítulo

- Se comprobó que el sulfametoxazol, contrario al metronidazol, afecta parámetros relacionados con el proceso de micelización de los tres homólogos de surfactante estudiados (CB12, CB14 y CB16), lo que indica la solubilización del fármaco en las micelas.

- Se comprobó además que el efecto del sulfametoxazol en el proceso de micelización depende de su concentración y del largo de la cadena hidrocarbonada del surfactante.

- Se comprobó que la molécula de sulfametoxazol se solubiliza en las micelas de los surfactantes CB12 y CB14 cerca de la cabeza polar del surfactante, con el anillo bencénico ubicado hacia el interior de la micela, y que a una concentración de fármaco de 2 mmol L^{-1} las micelas parecen saturarse. Se demostró además, que el metronidazol no se solubiliza en las micelas del CB12, aunque interactúa débilmente con el surfactante.

- Se pudo comprobar que la micelización del surfactante CB12 es un proceso exotérmico, y que está regido por el aumento de la entropía del sistema. La presencia de sulfametoxazol, a la concentración estudiada, no parece afectar la CMC, pero hace que el proceso de micelización del CB12 sea menos exotérmico, al mismo tiempo que provoca un ligero aumento en la entropía.

4.1 Introducción

Las zeolitas han emergido como materiales de gran interés en aplicaciones biomédicas debido a sus propiedades como adsorbentes, intercambiadores iónicos y catalizadores [1]. En particular, la clinoptilolita natural ha sido ampliamente usada para estos propósitos por su comprobada estabilidad fisicoquímica en ambientes biológicos [2]. Se ha demostrado que la clinoptilolita natural NZ, del depósito Tasajeras, mantiene su integridad estructural durante su tránsito a través del tracto gastrointestinal, y los estudios clínicos y biológicos evidenciaron que la misma no produce daños en humanos y animales [7,8]. Teniendo en cuenta lo anterior NZ y sus formas modificadas han sido evaluadas como productos activos en el tratamiento de diversas enfermedades [8,10,12], y como soportes para la liberación de moléculas e iones de interés farmacéutico [20,61].

La adsorción de surfactantes en la interfase sólido-líquido puede modificar las propiedades de la superficie del sólido y favorecer la captura de moléculas que no se adsorben en ausencia del surfactante. Este fenómeno, conocido en la literatura como adsolubilización, es el análogo superficial de la solubilización micelar [19,90,130]. Algunos investigadores han estudiado la modificación de superficies sólidas por surfactantes en el contexto de su uso para la liberación de fármacos [78-83]. Sin embargo, sólo existen pocos estudios que exploran la posibilidad de utilizar materiales compuestos zeolita-surfactante como soportes de fármacos [18,19].

En este capítulo se presentan los resultados de los estudios de adsorción en fase acuosa del cloruro de benzalconio (CB) y los tres homólogos con diferente largo de cadena (CB12, CB14 y CB16) sobre la clinoptilolita natural purificada (NZ). Se evalúa el efecto de los cationes intercambiables de NZ (Na^+, K^+ y Ca^{2+}) y de pre-tratamientos ácidos y básicos realizados a esta zeolita, con relación a la capacidad de adsorción de CB. Se estudia además la adsolubilización de sulfametoxazol y metronidazol en NZ en presencia del surfactante CB12, a concentraciones por debajo y por encima de su CMC. La adsolubilización de sulfametoxazol en presencia de CB es también estudiada.

4.2 Adsorción de surfactantes en muestras zeolíticas

4.2.1 Influencia del largo de la cadena hidrocarbonada

Las isotermas de adsorción sobre NZ de los surfactantes catiónicos con diferente largo de cadena hidrocarbonada se muestran en la figura 4.1. Es importante mencionar que las dimensiones de la

cabeza polar del surfactante son mayores que las del mayor canal de la clinoptilolita (canal a: 7.5 Å x 3.1 Å). Por tanto, los monómeros de surfactante no pueden penetrar en el sistema de canales de esta zeolita, y la adsorción está limitada al área superficial externa de los sólidos estudiados.

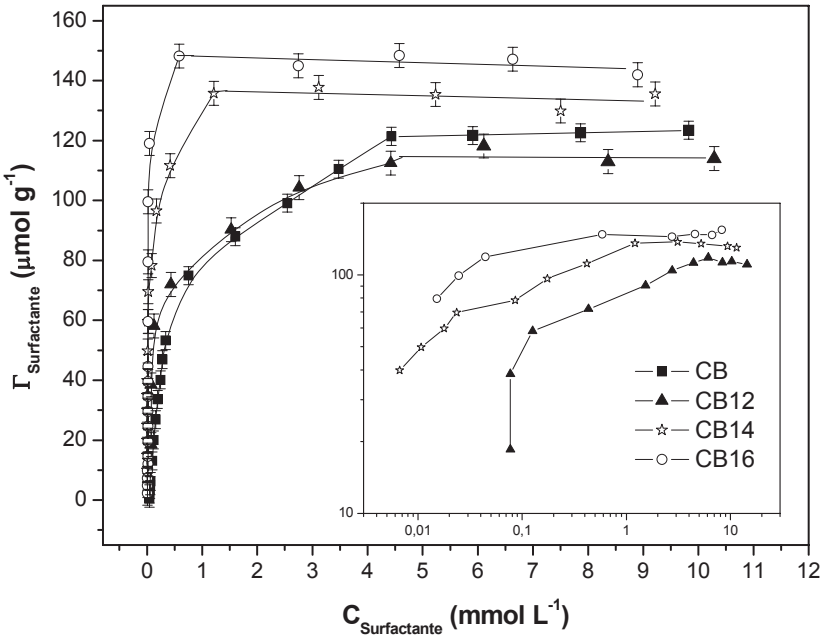


Figura 4.1 Isotermas de adsorción en fase acuosa de surfactantes catiónicos en NZ a 298 K, en escala normal y logarítmica. Las barras de error en las curvas corresponden a la desviación estándar de dos réplicas realizadas bajo idénticas condiciones.

La inspección visual del gráfico en escala logarítmica (ver recuadro insertado en la figura 4.1) indica que las isotermas no cumplen con el modelo de cuatro regiones, en particular, la región I parece estar ausente. Las curvas se caracterizan por un incremento abrupto de la cantidad adsorbida en la región de muy bajas concentraciones de surfactante. Esto evidencia la fuerte afinidad de los monómeros de surfactante por la superficie zeolítica. Luego, al aumentar la concentración de surfactante, la cantidad adsorbida aumenta de forma gradual hasta alcanzar el equilibrio, y aparece la región de la meseta en las isotermas.

Desde el punto de vista cualitativo, la forma de las curvas es muy similar a las obtenidas para la adsorción de diferentes surfactantes catiónicos en arcillas, zeolitas y aluminosilicatos porosos del tipo MCM-41[ξ]. En el caso de las arcillas y las zeolitas este comportamiento se explica sobre la base de que la adsorción ocurre a través de un mecanismo de intercambio iónico entre el surfactante con

[ξ] las siglas provienen del inglés *Mobile Crystalline Material*. Es un material mesoporoso ordenado cuya estructura presenta un arreglo de canales hexagonales no conectados con dimensiones que se encuentran entre 2 y 10 nm.

carga positiva y los cationes de compensación de los materiales sólidos [74,131-134]. En los materiales tipo MCM-41 el incremento abrupto de la cantidad adsorbida en la primera región de las isotermas se atribuye a la formación de agregados superficiales a través de una condensación bi-dimensional en la superficie externa y en las paredes de los poros [135,136]. En el presente caso, la hipótesis de la fuerte agregación superficial de los surfactantes puede ser considerada como una consecuencia de la alta densidad de carga negativa en la superficie de NZ. La fuerte atracción electrostática entre la cabeza polar del surfactante catiónico y la superficie sólida cargada negativamente contribuye al incremento de la concentración de monómeros en la región interfacial, favoreciendo así la interacción entre las cadenas hidrocarbonadas de los surfactantes a través de fuerzas hidrofóbicas. Estos agregados primarios que se forman en la superficie de NZ van creciendo al aumentar la concentración de surfactante, para formar una estructura de agregados más extendida, lo cual se evidencia por el aumento gradual en la cantidad adsorbida.

Debe notarse que la isoterma de adsorción de CB es muy similar a la del CB12 (ver figura 4.1). Esta observación es coherente con la composición de la mezcla de CB, donde el homólogo CB12 es el componente mayoritario. En la tabla 4.1 se presentan los valores de la cantidad máxima adsorbida (Γ_m) para los tres homólogos con diferente largo de cadena hidrocarbonada. Cuando el largo de la cadena aumenta desde 12 hasta 16 átomos de carbono, la cantidad adsorbida aumenta y la región de la meseta se corre a menores concentraciones de surfactante (ver figura 4.1). Tendencias similares han sido observadas por otros autores para la adsorción de diferentes series homólogas de surfactantes en varios sustratos [132,134,137,138]. Este comportamiento se atribuye al incremento en el carácter hidrofóbico del surfactante, y al empaquetamiento más compacto de los monómeros en los agregados superficiales. De hecho, el área de empaquetamiento (A_S) sobre NZ de los surfactantes estudiados, bajo condiciones de saturación, disminuye con el incremento del largo de la cadena hidrocarbonada (ver tabla 4.1). Para el cálculo de A_S sólo se consideró el área superficial externa de NZ (55 $m^2\ g^{-1}$), que fue determinada según el análisis α-plot de los datos de la isoterma de adsorción de nitrógeno.

Tabla 4.1 Cantidad máxima adsorbida (Γ_m) y área de empaquetamiento (A_S) para la adsorción de los homólogos de surfactante con diferente largo de cadena hidrocarbonada sobre NZ.

Surfactante	**Γ_m (μmol g^{-1})**	**A_S (Å^2)**
CB12	115	79
CB14	128	71
CB16	151	61

El número hipotético de capas adsorbidas puede ser calculado dividiendo el área de la sección transversal de la cabeza polar del surfactante por el área de empaquetamiento, asumiendo que los surfactantes se empaquetan densamente en la superficie externa de las partículas sólidas. El área de la sección transversal es de 100 $Å^2$, la cual fue determinada a partir de las mediciones de tensión superficial en función de la concentración (para más detalle ver capítulo 3, epígrafe 3.2). El número de capas calculadas de esta forma es 1.3, 1.4 y 1.6, para el CB12, CB14 y CB16, respectivamente, o sea, aumenta con el incremento de la longitud de la cadena hidrocarbonada, lo que obedece al incremento en la capacidad de cohesión de los agregados relacionados.

4.2.2 Influencia del catión intercambiado en NZ

Con el objetivo de estudiar como se afecta la adsorción del cloruro de benzalconio en NZ, en función del catión de compensación presente en la zeolita, se prepararon, mediante procesos de intercambio iónico, muestras de NZ enriquecidas en Na, K y Ca. Las muestras resultantes de los procesos se denominaron NZ-Na, NZ-K y NZ-Ca, respectivamente. Como era de esperar, el análisis por difracción de rayos X de estas muestras reveló que no se afecta la estructura cristalina de NZ cuando es sometida a los diferentes tratamientos hidrotérmicos (los difractogramas se presentan en el Anexo A8). Resultado este en correspondencia con otros reportes, donde se evalúa la influencia del cation intercambiado en la estabilidad estructural de la clinoptilolita [6,27,139,140]. La composición química de NZ y las muestras intercambiadas de esta zeolita, expresada en forma de óxido de cada elemento, se reporta en la tabla 4.2.

Tabla 4.2 Composición química elemental de NZ y las muestras enriquecidas en sodio, potasio y calcio. Los resultados están expresados en porciento en masa de cada elemento en forma de óxido, con el agua como balance. El error promedio estimado es de ± 0.1 %.

Muestra	SiO_2	Al_2O_3	Na_2O	K_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3
NZ	63.5	11.2	1.7	1.3	3.7	0.6	0.2
NZ-Na	63.4	11.0	4.4	1.2	1.2	0.4	0.1
NZ-K	63.8	11.1	0.2	7.9	0.9	0.2	0.2
NZ-Ca	63.5	11.2	0.9	1.2	4.0	0.5	0.1

Las isotermas de adsorción en fase acuosa del CB sobre NZ y las muestras enriquecidas en cationes de esta zeolita se muestran en la figura 4.2. En general, las isotermas tienen formas similares a las observadas en la figura 4.1. Puede notarse que las diferencias cuantitativas entre las curvas no son significativas, por lo que se puede inferir que el catión intercambiado tiene sólo una ligera influencia

en la adsorción de CB sobre NZ. Las diferencias que se observan en la cantidad adsorbida a partir de la segunda región de las isotermas (C_{CB} entre 1 y 4 mmol L^{-1}, aproximadamente), pudieran ser atribuidas a las diferentes condiciones locales existentes en la doble capa eléctrica que rodea a las partículas del sólido, debido a la presencia de diferentes cationes en cada caso.

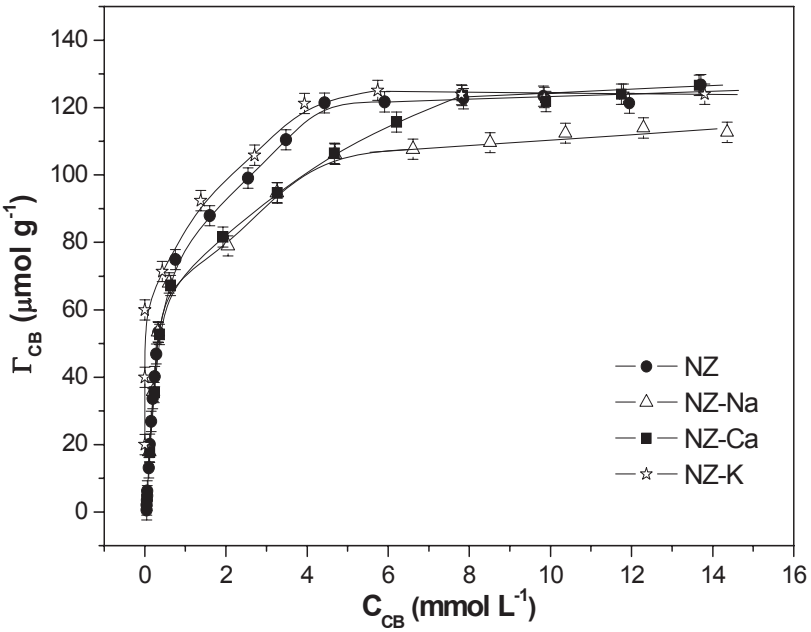


Figura 4.2 Isotermas de adsorción en fase acuosa a 298 K de CB en NZ y las muestras enriquecidas en los diferentes cationes. Las barras de error en las curvas corresponden a la desviación estándar de dos réplicas realizadas bajo idénticas condiciones.

De modo general, los resultados obtenidos pudieran discrepar con el mecanismo de intercambio iónico usualmente propuesto para explicar la adsorción inicial de surfactantes catiónicos en zeolitas y otras superficies minerales cargadas [16,134,141]. Sin embargo, es importante recordar que la adsorción de surfactantes en zeolitas es un proceso complejo, donde pueden operar, de forma simultánea o sucesiva, varios mecanismos cooperativos, como el intercambio iónico, las interacciones hidrofóbicas y el apareamiento de iones. Teniendo en cuenta esto y la poca diferencia entre las isotermas de CB en las muestras intercambiadas, no es posible en esta etapa del trabajo arribar a conclusiones con relación al mecanismo de adsorión que prevalece. Es por ello que esto se retomará y discutirá en el capítulo 5.

4.2.3 Influencia de tratamientos ácidos y básicos

Tal y como se ha reportado en la literatura [142-145], los tratamientos ácidos y básicos aplicados a materiales zeolíticos, producen variaciones en la relación silicio/aluminio (Si/Al), y por tanto en la

densidad y distribución de la carga superficial. En ocasiones, tales variaciones pueden tener influencia en la capacidad de adsorción del material [146,147]. Así, la cantidad de cloruro de benzalconio capturado por NZ-ácida o NZ-básica estará sujeta a variaciones, sobre la base de que las interacciones de tipo electrostáticas juegan un papel importante en la adsorción de surfactantes catiónicos en la zeolita. Considerando lo anterior, se evaluó el comportamiento de la adsorción de CB en muestras de NZ sometidas a tratamientos "suaves" con disoluciones de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio, a diferentes concentraciones. Las muestras ácidas se denominaron NZH-X, y las básicas NZOH-X, donde X es un número que corresponde a la concentración de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio empleada en el proceso.

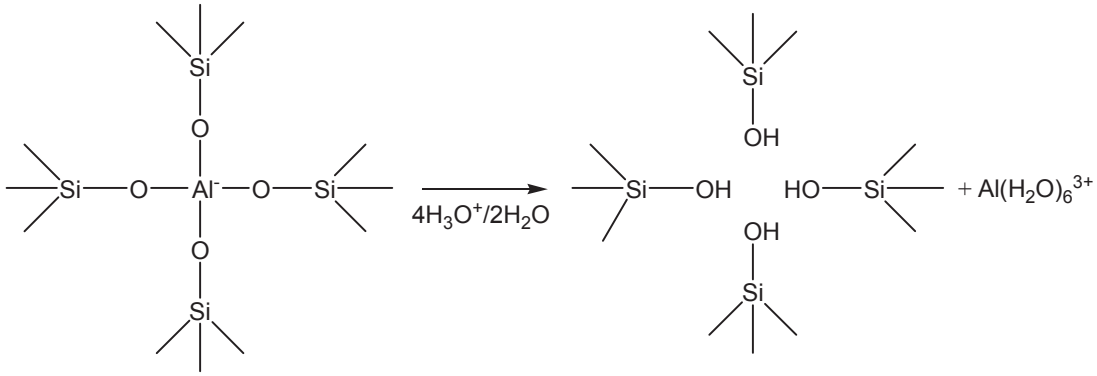
4.2.3.1 Caracterización de las muestras ácidas y básicas

Muestras tratadas con HCl

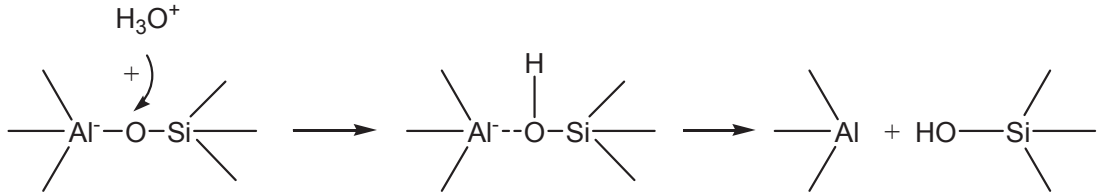
Cuando se realizan tratamientos con ácidos minerales a materiales zeolíticos tiene lugar una reacción de intercambio iónico entre los cationes de compensación y los protones del medio. Esta reacción, para el caso particular de una zeolita sódica tratada con ácido clorhídrico, puede ser representada según la siguiente ecuación química [144]:

$$Na^{+}Z^{-}_{(hidratada)} + H^{+}_{(ac)} = H^{+}Z^{-}_{(hidratada)} + Na^{+}_{(ac)}$$

Adicionalmente, los tratamientos ácidos conducen a la generación de sitios ácidos de Brönsted, que son grupos – OH superficiales capaces de ceder el protón [144], y a la extracción de aluminio del enrejado. La reacción que tiene lugar puede ser descrita según el siguiente esquema:



La desaluminación se produce por las rupturas sucesivas de los enlaces Al – O, como se representa a continuación [144]:



La extensión en que ocurre la desaluminación depende de las condiciones empleadas durante el tratamiento ácido, o sea, concentración de HCl, temperatura, tiempo de contacto, entre otros [145,148].

En la figura 4.3 se muestran los espectros de RMN MAS de ^{27}Al de NZ y las muestras de esta zeolita sometida a tratamientos ácidos, antes (NZH-0.1, NZH-0.5 y NZH-1) y después (NZH-0.1-lav, NZH-0.5-lav y NZH-1-lav) de realizar los procesos de lavado. En el caso de la muestra NZ sólo aparece una línea de resonancia a 55 ppm, que corresponde al aluminio con coordinación tetraédrica, o sea, formando parte del enrejado [6,61]. En los espectros de todas las muestras sometidas a tratamientos con ácido clorhídrico aparece una línea adicional a 0 ppm, que es característica de átomos de aluminio en coordinación octaédrica, lo que indica la extracción de aluminio del enrejado (ver figura 4.3 B). Como era de esperar, la intensidad de la señal a 0 ppm (que es una medida del grado de desaluminación o extracción de aluminio del enrejado) se incrementa al aumentar la concentración de HCl empleado en el tratamiento. Como resultado de los procesos de lavado realizados a las muestras ácidas, la intensidad de esta señal disminuye considerablemente, lo que indica que una gran parte del aluminio extra-enrejado es eliminado de las muestras en las aguas de lavado. Como puede observarse, en las muestras NZH-0.1-lav, NZH-0.5-lav y NZH-1-lav, queda aproximadamente la misma cantidad de aluminio octaédrico después de los lavados, nótese que la intensidad de las señales a 0 ppm es prácticamente la misma en estas muestras (ver figura 4.3 C). La pequeña cantidad remanente de especies octaédricas de aluminio pueden ser producidas por la hidrólisis del $[Al(H_2O)_6]^{3+}$ que tiene lugar al aumentar el pH sucesivamente con los lavados de las muestras. Dichas especies son poco solubles en agua y quedan retenidas en los materiales. Puede ser también posible que el aluminio se encuentre parcialmente enlazado al enrejado, de manera que se imposibilita su completa eliminación.

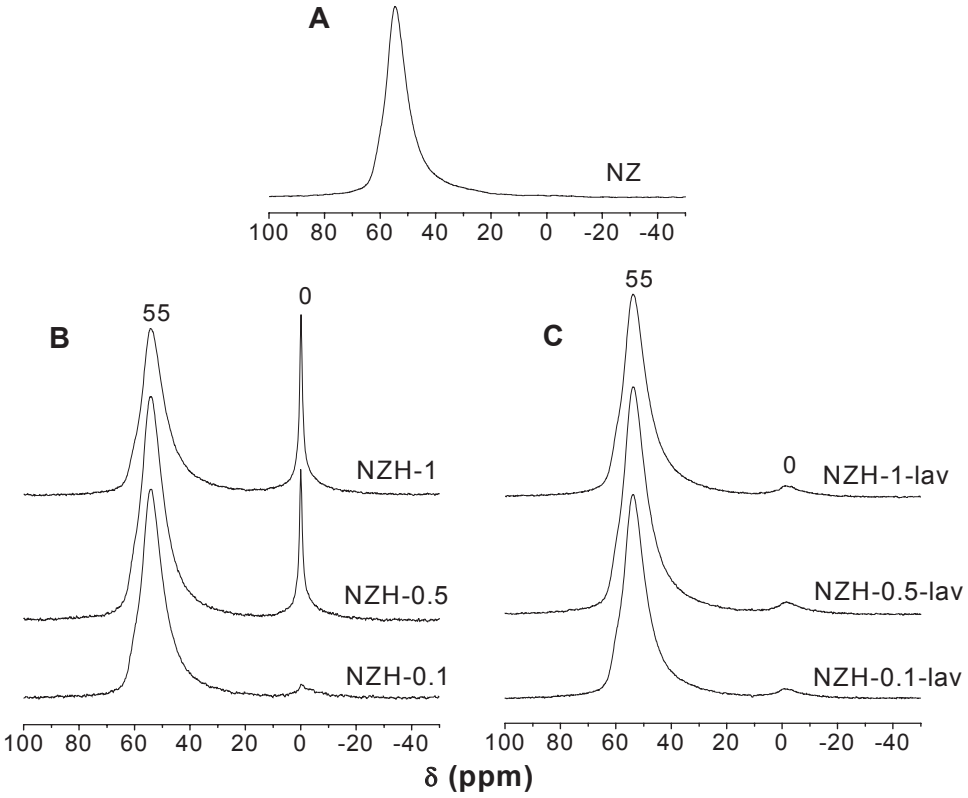


Figura 4.3 Espectros RMN MAS de ^{27}Al de NZ (A) y NZ sometida a tratamientos ácidos a diferentes concentraciones antes (B) y después (C) de realizar los procesos de lavado.

Los patrones de difracción de rayos X de las muestras sometidas a tratamientos ácidos, antes y después de efectuar los procesos de lavado, se presentan en la figura 4.4. La agudeza de los picos y la no variación en sus posiciones después de las modificaciones efectuadas, sugieren un alto grado de cristalinidad y estabilidad estructural de los materiales. O sea, que el tratamiento ácido de las muestras, aunque provoca cierta desaluminación en el enrejado, no ocasiona colapso o destrucción significativa de la estructura zeolítica, al menos detectable por esta técnica. Sin embargo, se percibe un moderado levantamiento del fondo en el difractograma de la muestra NZH-1, en la región de 2θ entre 20 y 35º aproximadamente, que puede ser debido a una incipiente pérdida de cristalinidad como resultado de la extracción de aluminio del enrejado. Esto no se observa en el difractograma de la muestra NZH-1-lav, debido probablemente a que el tratamiento térmico que se realiza después de los lavados, contribuye a restaurar en cierto modo la cristalinidad perdida.

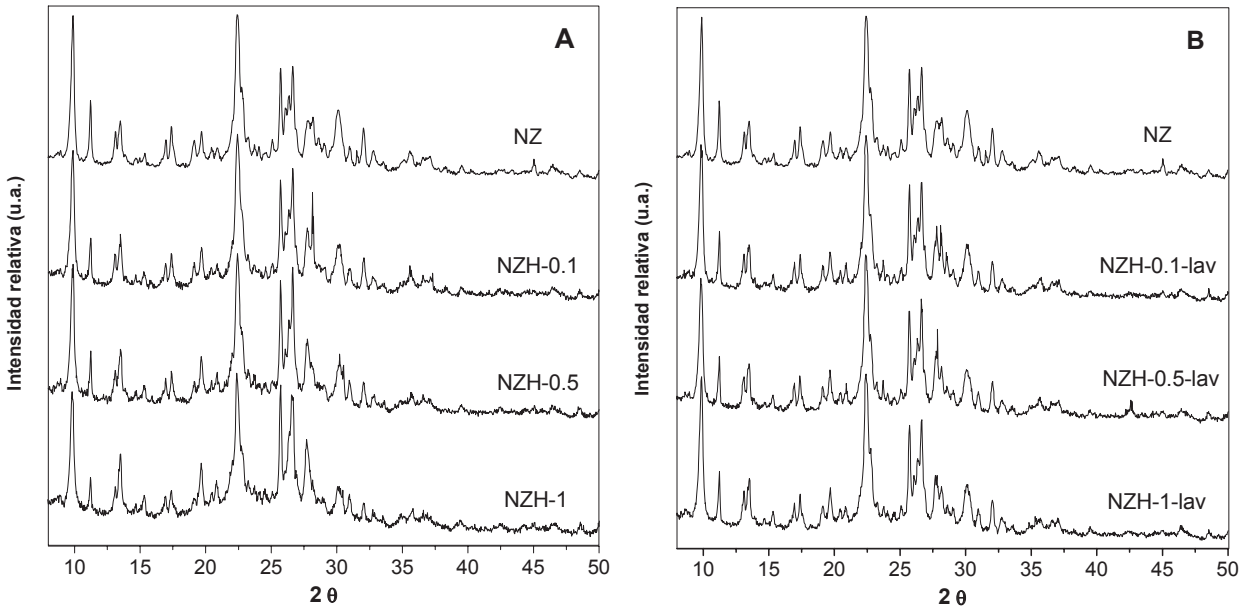
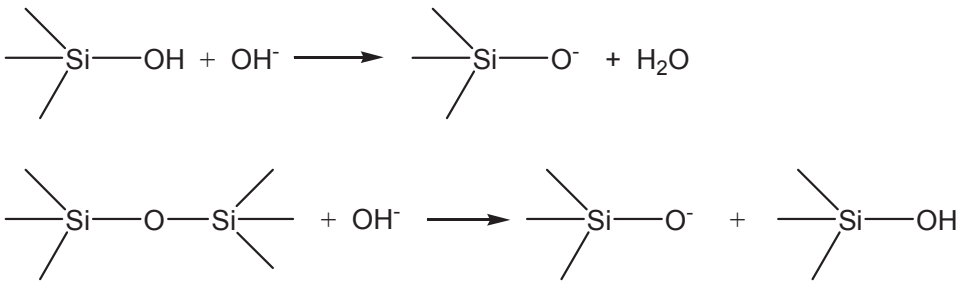


Figura 4.4 Patrones de difracción de rayos X de NZ y NZ después de tratamientos ácidos, antes (A) y después (B) de realizar los procesos de lavado.

Muestras tratadas con NaOH

Se conoce que durante los tratamientos básicos de las zeolitas se produce la extracción de silicio del enrejado. Esto ocurre porque el ión hidroxilo ioniza los grupos silanoles provocando la ruptura de los enlaces Si-O. Las reacciones anteriores pueden representarse de forma simplificada a través de las siguientes ecuaciones químicas:



De forma simultánea puede ocurrir un intercambio iónico parcial entre los cationes de compensación de la zeolita y el catión del hidróxido empleado para el tratamiento.

En la figura 4.5 se presentan los patrones de difracción de rayos X de NZ y las muestras de esta zeolita sometidas a tratamientos con hidróxido de sodio. El análisis de los difractogramas sugiere un alto grado de cristalinidad y estabilidad estructural de las muestras. Esto significa que los tratamientos básicos aplicados a NZ no parecen provocar alteraciones en la estructura cristalina de la

zeolita. Sin embargo, un resultado diferente puede ser obtenido cuando se realiza un análisis a través de RMN MAS de ^{29}Si de estas muestras (figura 4.6).

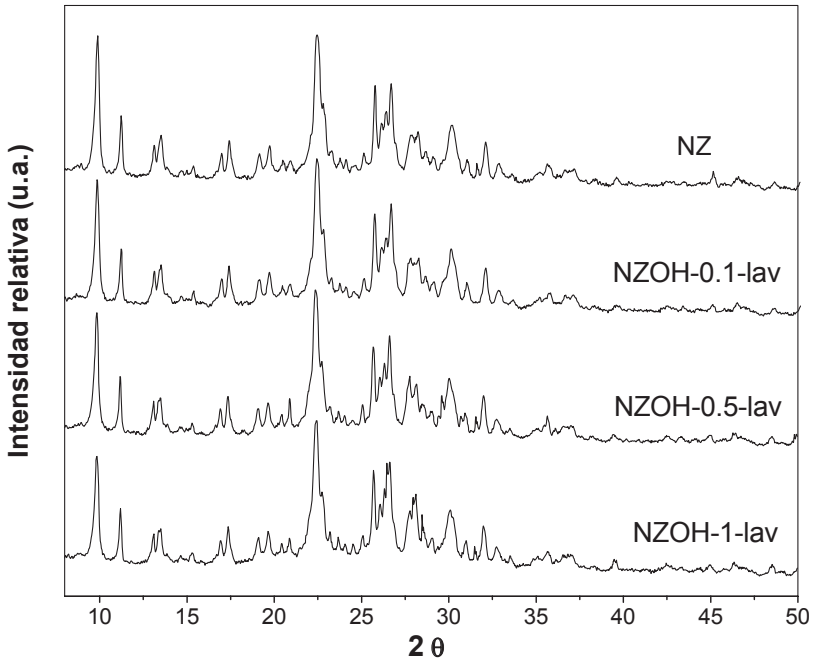


Figura 4.5 Patrones de difracción de rayos X de NZ y NZ sometida a tratamientos básicos y procesos de lavado.

La clinoptilolita es una zeolita de simetría monoclínica con cinco sitios T distintos [149], por lo que ocurre un solapamiento significativo de las líneas de RMN de ^{29}Si, debido a las diferentes distancias T-T y/o ángulos T-O-T [150,151]. La presencia de Fe^{3+} paramagnético en el enrejado provoca con frecuencia un ensanchamiento de las señales [152,153], lo que constituye una fuente adicional de dificultad en el análisis de los espectros. Luego de la deconvolución del espectro de NZ pueden identificarse cuatro bandas, que aparecen a desplazamientos químicos de -95, -100, -106, y -112 ppm (ver figura 4.6). Sobre la base de los valores reportados en la literatura [6,61,154], estas señales pueden relacionarse con las siguientes configuraciones: Si(2Al), Si(1Al), Si(1Al), y Si(0Al), respectivamente (Si(nAl) se refiere a un átomo de silicio rodeado por n átomos de aluminio). En la tabla 4.3 se presentan los valores de área relativa de cada señal para las diferentes muestras, según los resultados de la deconvolución e integración de los picos.

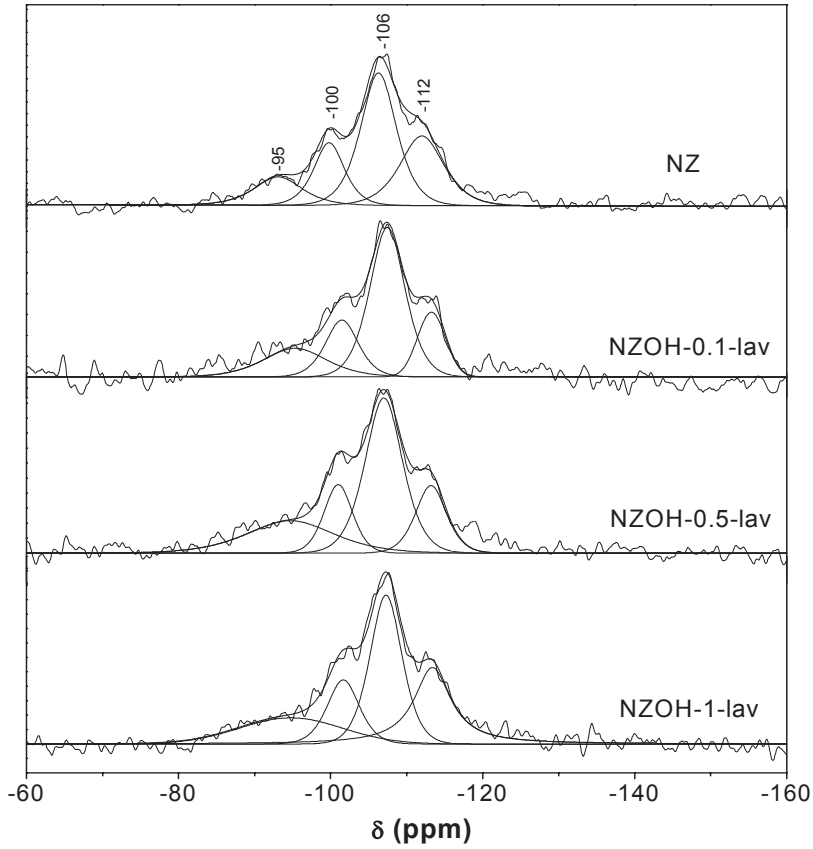


Figura 4.6 Espectros RMN MAS de ^{29}Si para NZ y NZ sometida a tratamientos básicos y sucesivos procesos de lavado.

Tabla 4.3 Área relativa de cada señal de RMN MAS de ^{29}Si para NZ y NZ después de los tratamientos básicos y procesos de lavado.

Línea de resonancia		**Área relativa (% del área total)***			
δ (ppm)	**Asignación**	**NZ**	**NZOH-0.1-lav**	**NZOH-0.5-lav**	**NZOH-1-lav**
-95 ± 2	Si(2Al)	12	17	19	19
-100 ± 0.2	Si(1Al)	15	17	18	15
-106 ± 0.2	Si(1Al)	50	49	43	43
-112 ± 0.4	Si(0Al)	23	16	20	23

* El error en las áreas reportadas es de ± 1 %

Como puede observarse en la figura 4.6 y la tabla 4.3, la intensidad de las señales a -95 ppm y -106 ppm aumenta y disminuye, respectivamente, al aumentar la concentración de NaOH empleada en el tratamiento. Por su parte, las señales a -100 ppm y -112 ppm, correspondientes a las configuraciones Si(1Al) y Si(0Al), respectivamente, muestran un comportamiento un tanto aleatorio con el aumento

de la concentración de NaOH. El análisis global de estos resultados indica que tiene lugar una ligera extracción de silicio del enrejado zeolítico debido a los tratamientos básicos efectuados.

Sobre la base de los resultados de caracterización realizados a las muestras luego de los tratamiento ácidos y básicos y los procesos de lavado, es posible concluir que el análisis a través de la difracción de rayos X no es suficiente para conocer sobre la estabilidad estructural de las muestras, y que es necesario un estudio complementario empleando RMN MAS de ^{27}Al y ^{29}Si.

4.2.3.2 Adsorción de CB en las muestras ácidas y básicas

La cantidad de CB adsorbido por NZ y las muestras sometidas a los tratamientos ácidos y básicos, así como datos relacionados con los sólidos, se muestran en la tabla 4.4.

Tabla 4.4 Cantidad de CB adsorbido (Γ), área de empaquetamiento (A_S), relación silicio/aluminio (Si/Al) y área superficial externa (A_{ext}) de NZ y NZ sometida a tratamientos ácidos y básicos.

Muestra	Γ (μmol g^{-1})*	A_S ($Å^2$)	Si/Al	A_{ext} (m^2 g^{-1})
NZ	127	72	4.84	55
NZH-0.1-lav	82	160	5.35	79
NZH-0.5-lav	87	82	5.65	43
NZH-1-lav	76	125	5.63	57
NZOH-0.1-lav	101	90	4.71	55
NZOH-0.5-lav	108	86	4.68	56
NZOH-1-lav	112	83	4.73	56

* Cantidad de CB adsorbida para una concentración inicial del surfactante de 18 mmol L^{-1}
A_{ext}: obtenida del análisis α-plot de los datos de las isotermas de adsorción de nitrógeno
Si/Al: determinada del análisis elemental de las muestras, ver Anexo A9

Como puede observarse, ambos tratamientos provocan un decrecimiento en la capacidad de adsorción de CB por la zeolita, siendo este efecto más pronunciado para las muestras tratadas con ácido clorhídrico. Los tratamientos ácidos aplicados a muestras zeolíticas tienden a incrementar el área superficial específica lo que se debe, entre otros factores, a la desaluminación del enrejado [61,155,156]. En el presente caso, el área superficial externa experimenta cambios irregulares en dependencia de la concentración de ácido empleada durante el tratamiento (ver tabla 4.4). La relación Si/Al de estas muestras se incrementa, indicando la extracción de aluminio del enrejado, lo que conduce a una disminución en la densidad de carga negativa neta de la superficie. Este hecho explica la disminución en la cantidad de CB adsorbido en las muestras ácidas con respecto a NZ, ya que no estarán favorecidas las interacciones electrostáticas entre el surfactante catiónico y la

superficie zeolítica. Se han reportado resultados similares para la sepiolita [157] y mordenita [133] sometidas a tratamientos ácidos. En el caso de zeolitas tratadas con disoluciones básicas se observa una pequeña disminución en la cantidad de surfactante adsorbido en comparación con NZ. Este comportamiento no es de esperar si se tienen en cuenta los cambios despreciables que tienen lugar en el área superficial externa y la relación Si/Al.

4.3 Adsolubilización de fármacos en NZ

En la figura 4.7 se muestran las isotermas de adsorción de sulfametoxazol en NZ, a dos concentraciones diferentes del surfactante CB12, por debajo y por encima de su valor de CMC (8.19 mmol L^{-1}). Es importante señalar que el sulfametoxazol no se adsorbe en lo absoluto en NZ en ausencia de surfactante, según se demostró en estudios previos [140]. Es evidente entonces que la presencia de CB12 en la región interfacial es indispensable para la adsorción de sulfametoxazol. Incluso a una concentración de de surfactante de 5 mmol L^{-1}, o sea, por debajo de su CMC, hay una adsorción considerable del fármaco. El incremento en la concentración de CB12 por encima de su CMC causa un aumento significativo de la cantidad de fármaco adsorbido.

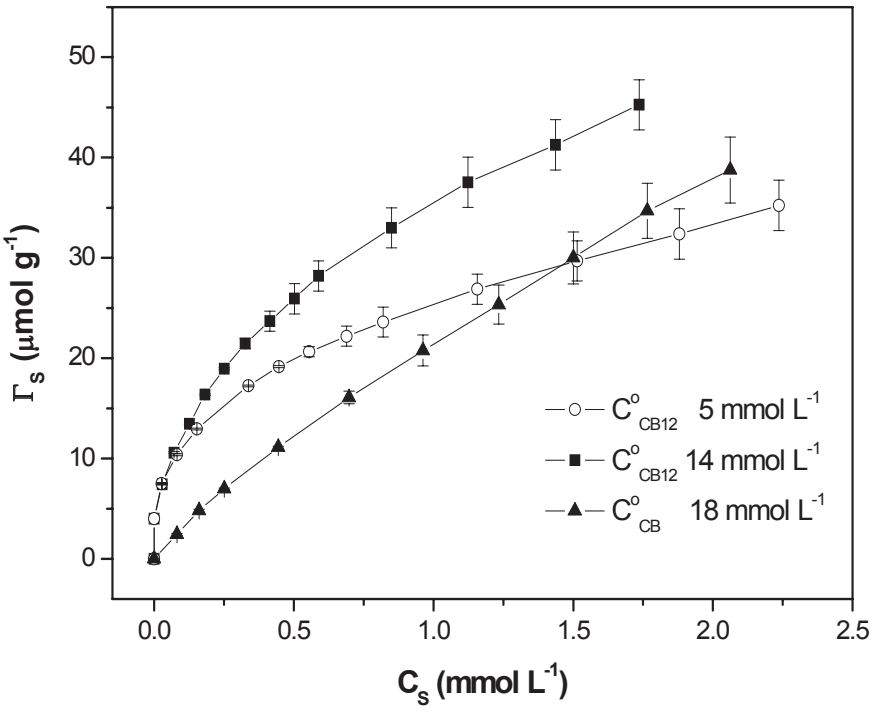


Figura 4.7 Isotermas de adsorción en fase acuosa del sulfametoxazol en NZ a 298 K, en presencia de los surfactantes CB12 y CB. Las barras de error en el gráfico corresponden a la desviación estándar de dos réplicas realizadas bajo idénticas condiciones experimentales.

La isoterma de adsorción de sulfametoxazol sobre NZ, en presencia del cloruro de benzalconio, se muestra también en la figura 4.7. Puede notarse que la forma de la curva difiere ligeramente de las obtenidas en presencia del surfactante CB12, lo cual puede ser debido a la influencia de los otros dos homólogos presentes en la mezcla de CB. Se conoce, de los resultados presentados en el capítulo 3, que el sulfametoxazol se solubiliza en diferentes sitios según sea el tamaño de las micelas que se forman en cada caso. Si se asume que el sistema se comporta de forma análoga para el caso de la adsolubilización, es de esperar entonces que la co-adsorción del fármaco en presencia de CB sea diferente, ya que el tamaño y la forma de los agregados superficiales que se forman en este caso diferirán de los que se forman para el homólogo puro CB12.

Por otra parte, la presencia de sulfametoxazol en el sistema también tiene un impacto en la adsorción de CB12 sobre NZ, como puede ser observado en la figura 4.8, donde la cantidad de surfactante adsorbido aumenta ligeramente al aumentar la concentración inicial de fármaco en la fase acuosa.

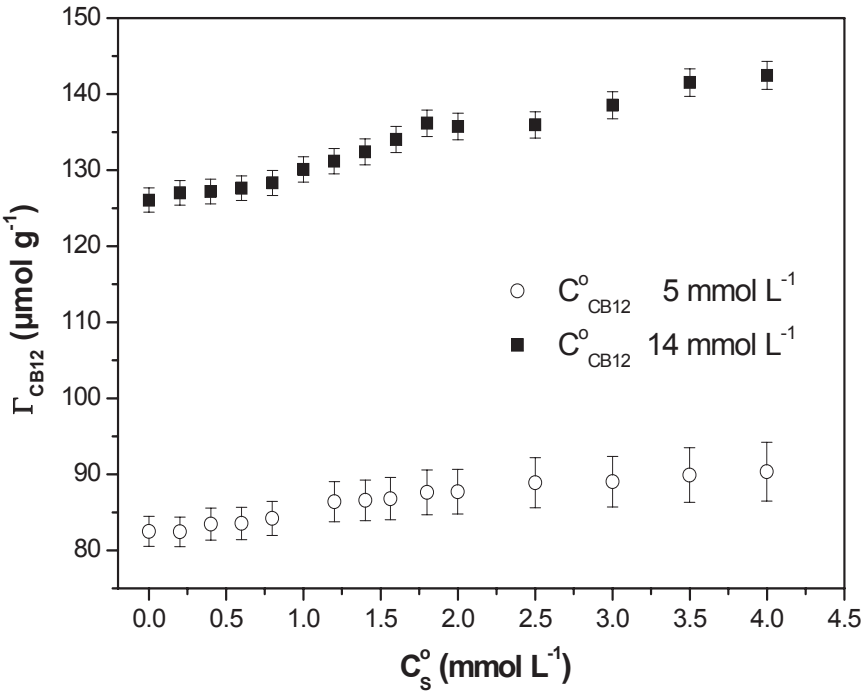


Figura 4.8 Adsorción de CB12 en NZ en función de la concentración inicial de sulfametoxazol en disolución.

En la figura 4.9 se muestran las isotermas de adsorción de metronidazol en NZ a concentraciones constantes de CB12 de 5 y 14 mmol L^{-1}. La cantidad máxima adsorbida de metronidazol es de alrededor de 7 µmol g^{-1}. Si se tiene en cuenta que en ausencia de surfactante la cantidad máxima

adsorbida, en condiciones experimentales similares a las empleadas aquí, es de 12 μmol g^{-1} [140], es evidente que la presencia de CB12 en el sistema no favorece la adsorción de este fármaco en NZ.

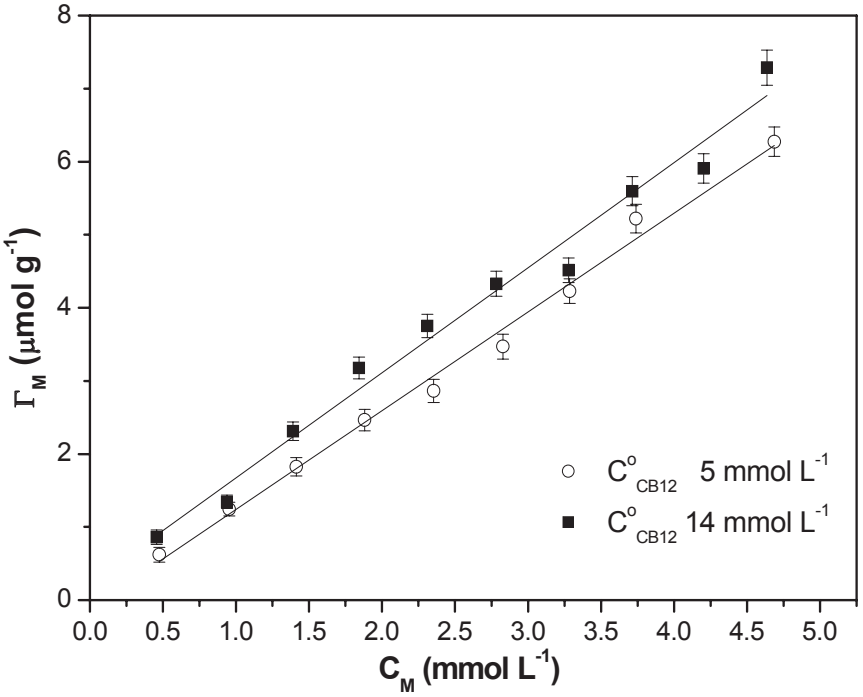


Figura 4.9 Isotermas de adsorción en fase acuosa del metronidazol en NZ a 298 K, en presencia del surfactante CB12. Las barras de error en el gráfico corresponden a la desviación estándar de dos réplicas realizadas bajo idénticas condiciones experimentales.

Puede notarse además, que no hay diferencias significativas en la cantidad de metronidazol adsorbido cuando la concentración de surfactante está por debajo o por encima de su valor de CMC. Para una concentración inicial de CB12 de 5 mmol L^{-1} sólo una parte de la superficie de NZ está recubierta por el surfactante adsorbido (0.9 capas adsorbidas), mientras que el recubrimiento de la superficie a una concentración de 14 mmol L^{-1} corresponde a 1.24 capas adsorbidas en la superficie externa. Está claro entonces que, la cantidad de metronidazol adsorbido es independiente del grado de recubrimiento de la superficie de NZ por el surfactante, lo que concuerda con la baja capacidad de solubilización de este fármaco en las micelas de CB12, como se presentó en el capítulo 3. La afirmación anterior es también coherente con los valores similares de coeficiente de partición (K_p) obtenidos de la pendiente de la ecuación lineal de las isotermas de adsorción de metronidazol para las dos concentraciones de CB12 estudiadas:

$$\Gamma = K_p C \tag{4.1}$$

donde: C es la concentración de equilibrio, Γ es la cantidad adsorbida y K_p es el coeficiente de partición. Los resultados obtenidos del ajuste lineal de las curvas de cantidad adsorbida en función de la concentración de equilibrio de metronidazol se muestran en la tabla 4.5.

Tabla 4.5 Resultados del ajuste lineal de las isotermas de adsorción de metronidazol en NZ en presencia de CB12 a concentraciones iniciales de 5 y 14 mmol L^{-1}.

Concentración de CB12	K_p (mL g^{-1})	r^2
5 mmol L^{-1}	1.35 ± 0.04	0.996
14 mmol L^{-1}	1.44 ± 0.07	0.991

En la figura 4.10 se presentan los gráficos de adsorción de CB12 en NZ, en función de la concentración inicial de metronidazol en disolución.

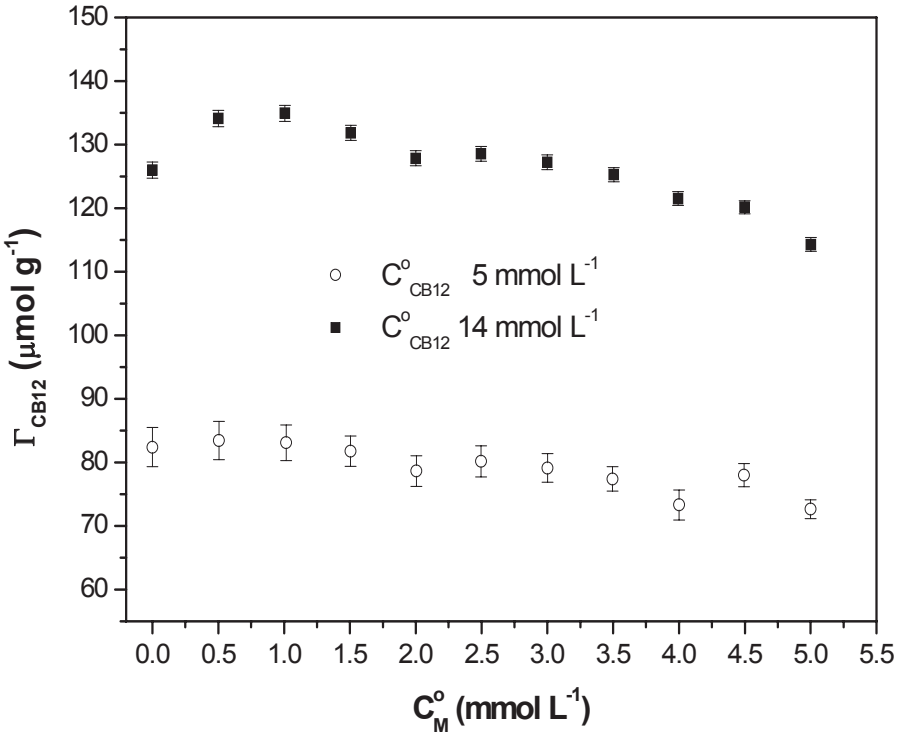


Figura 4.10 Adsorción de CB12 en NZ en función de la concentración inicial de metronidazol en disolución.

Contrario al caso del sulfametoxazol, la cantidad de surfactante adsorbido disminuye ligeramente al aumenta la concentración inicial del fármaco en disolución. Considerando que el metronidazol se adsorbe moderadamente en NZ [140] y que el mismo prácticamente no se solubiliza en las micelas

del CB12, el comportamiento anterior puede ser explicado sobre la base de la posible competencia que se establece entre el fármaco y el surfactante por los sitios de adsorción superficiales de NZ.

Los resultados obtenidos en los estudios de adsolubilización de los fármacos modelos sulfametoxazol y metronidazol, concuerdan con los de solubilización de los mismos en las micelas del surfactante CB12 (ver capítulo 3), y son además coherentes con los resultados de trabajos previos relacionados con la adsorción de estos fármacos en composites NZ-CB [20].

4.4 Conclusiones del capítulo

- Los resultados de las isotermas de adsorción de surfactantes (CB, CB12, CB14 y CB16) en NZ y sus formas modificadas evidenciaron en todos los casos una gran afinidad entre el surfactante cargado positivamente y la superficie de la zeolita con densidad de carga negativa, poniendo de manifiesto que existe una fuerte interacción electrostática entre el adsorbato y el adsorbente.

- Se comprobó que al aumentar el largo de la cadena del surfactante desde 12 hasta 16 átomos de carbono, la cantidad adsorbida incrementa, lo que se atribuyó al incremento en el carácter hidrofóbico del surfactante y a su empaquetamiento más compacto en la superficie del sólido.

- El catión intercambiado en la superficie de las muestras zeolíticas demostró tener poca influencia sobre la adsorción del surfactante.

- Los tratamientos ácidos y básicos aplicados a NZ provocaron extracción de Al y Si del enrejado, respectivamente, sin ocasionar colapso o destrucción significativa de la estructura zeolítica. Los estudios de adsorción de CB en estas muestras indicaron una disminución de la cantidad de surfactante adsorbido, por lo que se concluyó que NZ puede ser usada sin modificación adicional para la adsorción de este surfactante.

- Los resultados de adsolubilización de dos fármacos modelos por el sistema NZ-surfactante indicaron que la adsorción de CB o CB12 es indispensable para la captura del fármaco menos polar, sulfametoxazol, sin embargo, la presencia de los mismos no favorece la adsorción del metronidazol.

5.1 Introducción

Como se ha mencionado anteriormente, la adsorción de surfactantes en la interfase sólido/líquido favorece la co-adsorción de moléculas poco afines al sólido en cuestión. La adsorción de ambos, surfactante y molécula co-adsorbida, puede estar afectada por varios factores. Entre ellos podemos citar, la naturaleza de los grupos estructurales de la superficie sólida, la estructura molecular de las moléculas que se adsorben, y las características de la fase acuosa, o sea, pH, concentración de electrolitos, presencia de aditivos orgánicos, y temperatura entre otros [68].

Considerando lo anterior y la demostrada capacidad de adsorción de CB por NZ, el objetivo de esta parte del trabajo está dirigido a la obtención de materiales compuestos zeolita-surfactante-fármaco, para su empleo como matrices de liberación. En este sentido se hace obligatorio ajustar la metodología a seguir para obtener la mayor cantidad posible de fármaco adsolubilizado en el material, con los mejores beneficios económicos y tecnológicos. Basados en los resultados presentados en el epígrafe 4.2, los estudios se llevarán a cabo en los sistemas zeolita-cloruro de benzalconio (NZ-CB) y zeolita-cloruro de benzalconio-sulfametoxazol (NZ-CB-S). Entre los factores a considerar están, el tiempo, la fuerza iónica del medio, la temperatura y el pH del medio. Además, se presentarán y discutirán los resultados de la caracterización realizada a los materiales compuestos obtenidos empleando las mejores condiciones experimentales, y se realizará un estudio preliminar relacionado con la liberación de sulfametoxazol.

5.2 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: influencia de diferentes factores

5.2.1 Cinética de adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ

En la figura 5.1 se muestran las curvas cinéticas de adsorción de CB en NZ para dos concentraciones iniciales del surfactante, ambas por encima de su CMC (1.6 mmol L^{-1}). En ambos casos, la cantidad de CB adsorbido sobre NZ se incrementa rápidamente con el tiempo, alcanzándose el equilibrio a las 1.5 h para una concentración de surfactante de 3 mmol L^{-1}, y a las 4 h para una concentración de 18 mmol L^{-1}.

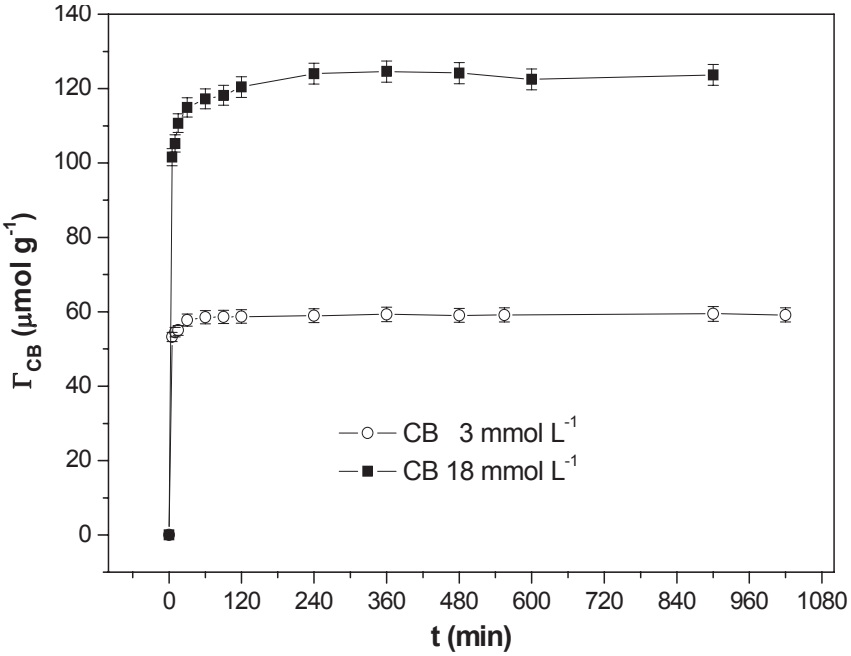


Figura 5.1 Cantidad de CB adsorbido en NZ en función del tiempo, para dos concentraciones iniciales de surfactante, 3 y 18 mmol L^{-1}.

Se consideraron varios modelos cinéticos para ajustar los datos experimentales, los modelos de pseudo primer y pseudo segundo orden, el modelo de difusión inter-partícula, y la ecuación de Elovich [158]. La mejor correlación se obtuvo para el caso del modelo cinético de pseudo segundo orden. Para el resto de los modelos, se obtuvieron valores del coeficiente de correlación (r^2) entre 0.4 y 0.8, o sea, estos modelos no describen adecuadamente las curvas experimentales. El modelo de pseudo segundo orden se expresa en su forma lineal mediante la ecuación 5.1 [159]:

$$\frac{t}{\Gamma_t} = \frac{1}{k_2 \Gamma_m^2} + \frac{1}{\Gamma_m} t \qquad (5.1)$$

donde: t es el tiempo, Γ_t es la cantidad adsorbida a un tiempo t, k_2 es la constante de velocidad de pseudo segundo orden, y Γ_m es la cantidad adsorbida en el equilibrio.

Este modelo incluye todos los pasos del mecanismo de adsorción –difusión externa, difusión inter-partícula y adsorción– por lo que es un pseudo modelo, y por tanto k_2 es una pseudo constante. En la figura 5.2 se presentan los gráficos del ajuste lineal del modelo de pseudo segundo orden a las curvas cinéticas para las dos concentraciones de CB estudiadas. Los parámetros cinéticos obtenidos se recogen en la tabla 5.1.

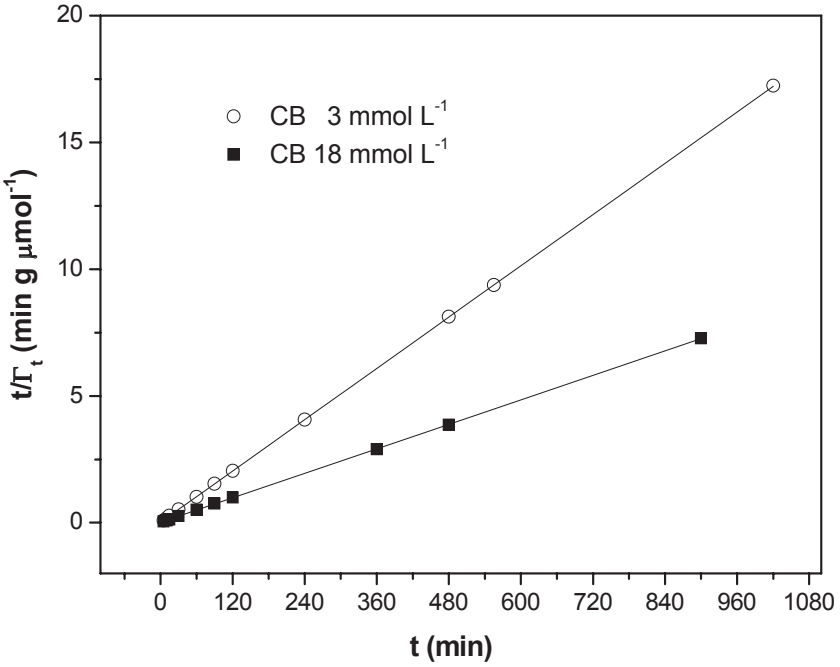


Figura 5.2 Ajuste lineal de la cinética de adsorción de CB en NZ según el modelo de pseudo segundo orden, para concentraciones iniciales de surfactante de 3 y 18 mmol L^{-1}.

Tabla 5.1 Parámetros obtenidos del ajuste del modelo de pseudo segundo orden a las curvas cinéticas de adsorción de CB en NZ.

C_{CB} (mmol L^{-1})	Γ_m (μmol g^{-1})	k_2 (g μmol^{-1} min^{-1})	r^2
3	59.4 ± 0.1	0.017 ± 0.004	0.9999
18	124.0 ± 0.3	0.004 ± 0.002	0.9999

Según el modelo de pseudo segundo orden, la quimisorción –que involucra fuerzas de valencia que se caracterizan por intercambiar o compartir electrones entre el adsorbente y el adsorbato– puede ser el paso limitante de la velocidad de reacción [159]. Esta hipótesis es válida en el presente caso, donde se establecen fuertes interacciones electrostáticas entre el surfactante catiónico y la superficie de la zeolita cargada negativamente. Sin embargo, según el modelo, no deberían existir diferencias significativas entre los valores de la constante de velocidad (k_2) en relación con la concentración inicial de surfactante. Tales diferencias sugieren que, además de la quimisorción, otros factores juegan un papel importante en el proceso de adsorción. En este sentido, se ha reportado en la literatura, que para concentraciones de surfactante por encima de la CMC, se adsorben las micelas en lugar de los monómeros, las cuales se reorganizan para formar monocapas o bicapas según sea el grado de recubrimiento de la superficie [75], que dependerá de la concentración inicial de

surfactante. Se considera que este reordenamiento constituye el paso limitante del mecanismo de adsorción. Si aceptamos esta hipótesis, es de esperar que a una concentración de 3 mmol L^{-1}, donde no llega a completarse una monocapa (0.64 capas adsorbidas), el reordenamiento de los agregados pre-adsorbidos implique la ruptura de las interacciones entre las cadenas hidrocarbonadas del surfactante, y el consecuente establecimiento de interacciones electrostáticas entre la cabeza cargada del surfactante y la superficie de la zeolita. Este proceso está más favorecido que el que tiene lugar para una concentración inicial de 18 mmol L^{-1}, donde el número de capas adsorbidas es de 1.36. En este último caso, el reordenamiento involucra además el establecimiento de nuevas interacciones hidrofóbicas entre las cadenas hidrocarbonadas del surfactante en la bicapa en proceso de formación. Esto puede representarse esquemáticamente como se muestra en la figura 5.3. Basados en este análisis, es de esperar que el equilibrio se alcance con mayor rapidez cuando la concentración inicial de surfactante es de 3 mmol L^{-1}, tal y como se muestra en la figura 5.1.



Figura 5.3 Representación esquemática de la adsorción y reordenamiento de un surfactante sobre una superficie sólida. De (a) a (b) y de (c) a (d), para bajos y altos grados de recubrimiento superficial, respectivamente. Tomado de la referencia [75].

La dependencia de la cantidad adsorbida de sulfametoxazol sobre NZ con el tiempo, en presencia de CB a una concentración inicial de 18 mmol L^{-1}, se presenta en la figura 5.4. Como puede notarse, el sulfametoxazol se adsorbe muy rápidamente en la zeolita. En los primeros 5 minutos de contacto la cantidad de fármaco incorporado es de alrededor del 90 % del total adsorbido. Luego, la cantidad adsorbida para completar el 100 %, aumenta lentamente en el tiempo hasta alcanzar el equilibrio a

las 10 h de interacción aproximadamente. Este comportamiento sugiere que los agregados superficiales de CB se saturan rápidamente en el fármaco. Así, el gran intervalo de tiempo requerido para alcanzar el equilibrio puede ser debido a la necesidad en el sistema de un reordenamiento de estos agregados para poder acomodar la máxima cantidad de moléculas de sulfametoxazol.

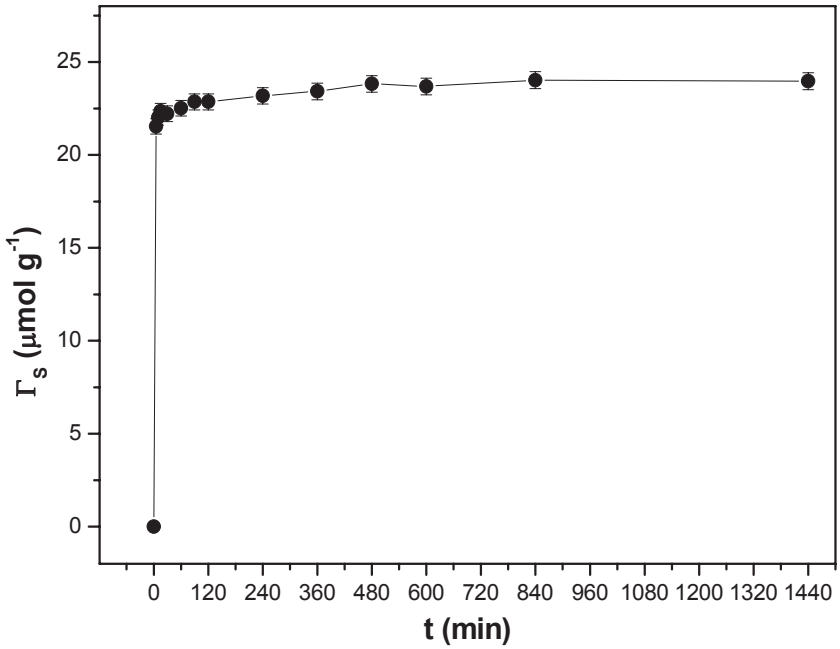


Figura 5.4 Adsorción de sulfametoxazol en NZ en función del tiempo, en presencia de CB a una concentración inicial de 18 mmol L^{-1}, y una concentración inicial de fármaco de 2.5 mmol L^{-1}.

5.2.2 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: influencia de la fuerza iónica

La cantidad de cloruro de benzalconio y de sulfametoxazol adsorbidos en NZ, a diferentes concentraciones de cloruro de sodio y cloruro de potasio, se muestran en la figura 5.5 A y B, respectivamente. El incremento en la fuerza iónica del medio, que es dependiente del electrolito empleado, provoca una disminución en la cantidad de surfactante adsorbido en la zeolita (figura 5.5 A). Este comportamiento, es contrario a lo comúnmente reportado en la literatura para la adsorción de surfactantes iónicos [68,73]. Sin embargo, es importante apuntar que la mayoría de estos estudios se han realizado empleando sílica, alúmina, y celulosa, como sustratos [68,73,137,160], y las propiedades de estos sólidos difieren en demasía de las propiedades de las zeolitas. En nuestro caso, la disminución en la cantidad de CB adsorbido al aumentar la fuerza iónica del medio, puede ser explicada sobre la base de la competencia que se establece entre los cationes inorgánicos (Na^+ y K^+) y el catión orgánico (surfactante) por los sitios con densidad de carga negativa de la superficie zeolítica. Esto entonces apoyaría la hipótesis de que la adsorción de CB en NZ tiene lugar a través

de un proceso de intercambio iónico y/o una fuerte atracción electrostática. Este resultado permite establecer un posible mecanismo de adsorción de CB en NZ –el cual no resultó evidente en el capítulo 4 cuando se estudiaron varias muestras de NZ modificadas con diferentes cationes– con la finalidad de conocer la influencia del cation intercambiado en el proceso de adsorción del surfactante. Adicionalmente, al comparar las curvas de la figura 5.5 A, se puede comprobar que el cloruro de potasio es el electrolito que provoca una mayor disminución en la cantidad de CB adsorbido, lo que es coherente con la gran afinidad de la clinoptilolita por el catión potasio con relación al sodio (para el caso del electrolito NaCl). Nótese que el orden de selectividad de la clinoptilolita para los cationes del grupo I es: $Cs^+ >> K^+ > Na^+ > Li^+$ [24,139].

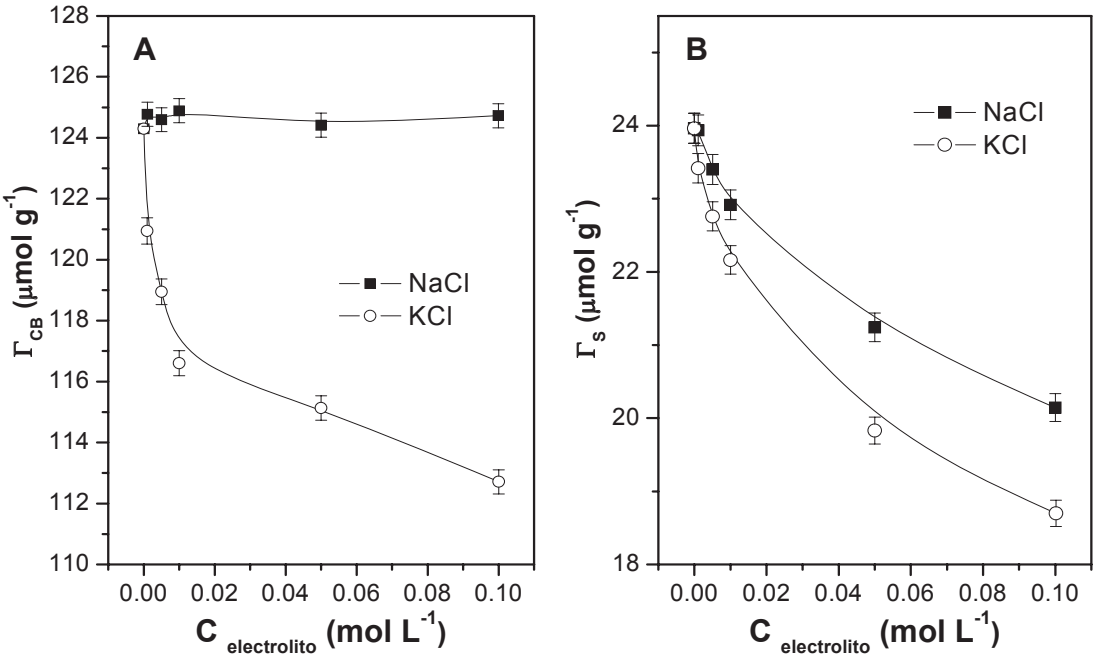


Figura 5.5 Cantidad de CB (A) y sulfametoxazol (B) adsorbidos en NZ en función de la concentración de electrolito adicionado.

En la figura 5.5 B se puede observar que hay poca influencia de la fuerza iónica del medio, para los dos electrolitos estudiados, en la cantidad de sulfametoxazol adsorbido. La ligera disminución observada en la cantidad de fármaco puede ser debida a varios factores, entre ellos: la cantidad de surfactante adsorbido, y cambios en el grado de ionización y número de agregación de las micelas.

5.2.3 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: efecto de la temperatura

En la figura 5.6 se presentan los gráficos de la dependencia de la cantidad de cloruro de benzalconio y sulfametoxazol adsorbidos en NZ en función de la temperatura. De los resultados se evidencia que la adsorción de CB se favorece con el aumento de la temperatura, lo que indica que el proceso es de

naturaleza química (los procesos de adsorción física no se favorecen con el aumento de la temperatura). Se han reportado resultados similares para la adsorción de surfactantes catiónicos en ZSM-5 y clinoptilolita [161], donde el mecanismo de adsorción propuesto es el intercambio iónico.

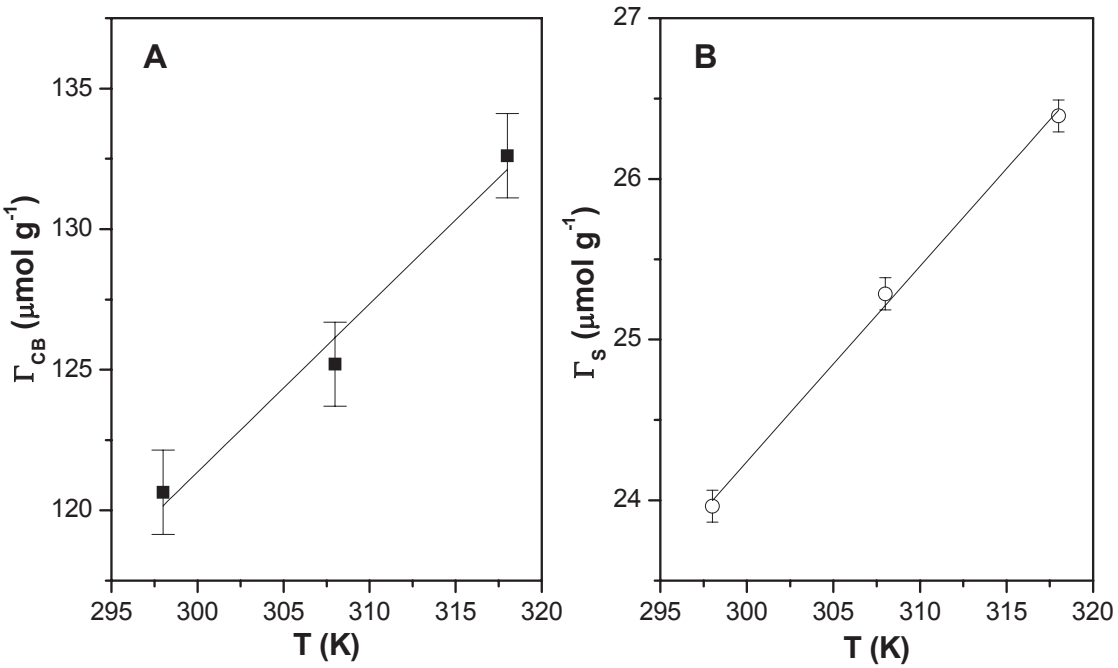


Figura 5.6 Influencia de la temperatura en la adsorción de CB (A) y sulfametoxazol (B) en NZ. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de dos réplicas.

Puede observarse en la figura 5.6 B, que la cantidad de sulfametoxazol adsorbido también se incrementa con el aumento de la temperatura. Como se discutió en el capítulo 4, este fármaco no se adsorbe directamente sobre NZ, sino que se incorpora en el material mediante su adsolubilización en los agregados de surfactante adsorbidos en la superficie de la zeolita. Es de esperar entonces que la capacidad de captura del fármaco aumente con el incremento de la cantidad de CB adsorbido en NZ.

5.2.4 Adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ: influencia del pH del medio

En la figura 5.7 se presentan los gráficos de la dependencia de la cantidad de CB y sulfametoxazol adsorbidos en función del pH del sistema. En cada gráfico aparecen tres curvas que corresponden a valores de pH medidos a diferentes tiempos: t = 0, t = 3 h y t = 6 h, o sea, al inicio, a la mitad y al final de la interacción (ver epígrafe 2.5). En ambos casos (adsorción de CB y adsolubilización de sulfametoxazol), el pH del sistema cambia con el tiempo. Las mayores variaciones tienen lugar en la región de pH ácido, durante las primeras tres horas de interacción. Lo anterior se debe a las reacciones que tienen lugar entre la zeolita y los iones hidronio e hidroxilo (ver epígrafe 4.2.3.1).

Como puede observarse, las curvas tienen una forma parabólica, donde la máxima adsorción de surfactante y fármaco se alcanza cuando el pH del sistema se encuentra entre 9 y 11 unidades.

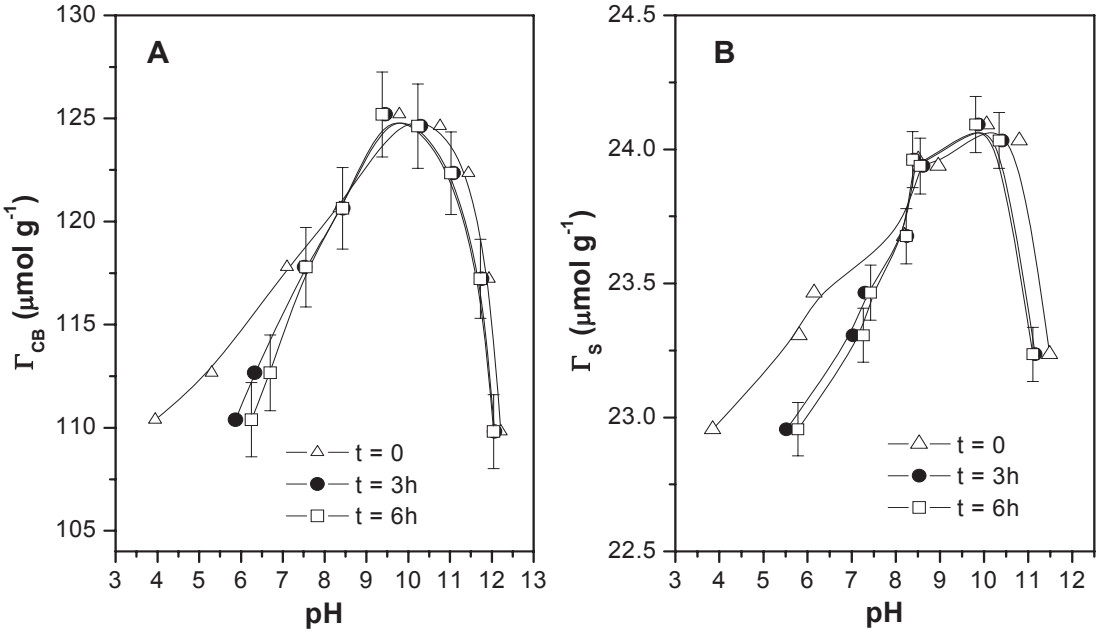


Figura 5.7 Influencia del pH en la adsorción de CB (A) y sulfametoxazol (B) en NZ.

La adsorción de surfactantes iónicos en superficies sólidas es un proceso complejo debido a la presencia de un grupo cargado en la estructura de estas moléculas. Se conoce que este proceso es particularmente sensible a las interacciones de los contra-iones (iones de carga contraria a la del surfactante) y los co-iones (iones de carga igual a la del surfactante) con los grupos cargados de la superficie del sólido [68]. El pH del medio puede también afectar diferentes factores en el sistema surfactante-sustrato, que pueden incluir: el nivel de disociación de los grupos superficiales del sólido, el grado de ionización de las micelas y la fuerza iónica del medio [68]. Si la afinidad de los co-iones por los grupos superficiales es suficientemente alta, entonces ellos pueden competir con el surfactante por los sitios de adsorción de la superficie sólida. Todos estos factores tienen influencia, no sólo en la cantidad de surfactante adsorbido, sino también en la morfología de los agregados superficiales formados [68].

La clinoptilolita natural presenta propiedades anfotéricas en medio acuoso [61,162,163]. Cuando el pH del medio es ácido, los protones se intercambian con los cationes nativos de la zeolita, resultando en un incremento del pH en el tiempo. Si el pH del medio es básico, la zeolita es capaz de ceder los protones de los grupos hidroxilos superficiales, con características ácidas, lo que trae como resultado un aumento de la densidad de carga negativa del enrejado. Ersoy y col. [164] estudiaron el

comportamiento del potencial zeta de una clinoptilolita natural en función del pH del medio acuoso. Los autores demostraron que la carga superficial se hace cada vez más negativa con el incremento del pH. A un valor de pH de 2 el potencial zeta de la clinoptilolita es de alrededor de -18 mV, o sea, la carga de la superficie se mantiene negativa aún en condiciones muy ácidas, a diferencia de la sílica o varias arcillas que presentan un punto isoeléctrico a valores de pH entre 2 y 4 [164]. Lo antes mencionado permite explicar la moderada disminución (≈ 14 μmol g^{-1}) en la adsorción de CB por NZ a valores de pH ácido, al comparar con el rango de pH donde se alcanza el máximo de adsorción (entre 9 y 11 unidades). Por otro lado, a pHs superiores a 11 se espera que la carga negativa superficial sea mayor (≈ -40 mV [164]) sin embargo, esto no conlleva al esperado incremento en la adsorción de CB. Por tanto, la ligera disminución observada en la cantidad de CB adsorbido a pHs por encima de 11, debe estar relacionada con las variaciones en el grado de ionización de las micelas y/o con el incremento de la fuerza iónica del medio acuoso.

Para el caso de la adsorción del sulfametoxazol (figura 5.7 B), el comportamiento cualitativo de las curvas es muy similar al del surfactante. Sin embargo, las diferencias observadas en la cantidad de fármaco adsorbido al variar el pH son realmente muy pequeñas (alrededor de 1 μmol de sulfametoxazol por gramo de zeolita). Estas ligeras variaciones deben estar simplemente relacionadas con la cantidad de CB adsorbido en el material.

5.3 Caracterización de los materiales compuestos zeolita-surfactante y zeolita-surfactante-fármaco

Considerando los resultados de los estudios realizados en el capítulo 4 y en el epígrafe 5.2 de este capítulo, se seleccionaron las mejores condiciones experimentales para preparar los materiales compuestos zeolita-surfactante y zeolita-surfactante-fármaco. Para preparar el material compuesto NZ-CB se emplearon las siguientes condiciones: relación sólido:líquido de 1g:20mL, concentración de CB de 18 mmol L^{-1}, tiempo de interacción de seis horas, temperatura de 303 K, y pH de 10. En el caso de los materiales zeolita-surfactante-fármaco se utilizaron idénticas condiciones experimentales, pero se emplearon disoluciones mixtas de CB (18 mmol L^{-1}) y sulfametoxazol, a concentraciones del fármaco de 2.5 mmol L^{-1} (NZ-CB-S) y 5 mmol L^{-1} (NZ-CB-S1). En el epígrafe 2.5, se presenta de forma detallada el método de preparación de estos materiales.

Con el objetivo de evaluar la repetibilidad del método de preparación, se prepararon seis muestras individuales de cada material compuesto (NZ-CB, NZ-CB-S y NZ-CB-S1). Los resultados obtenidos indican que la cantidad promedio de CB adsorbido en NZ es de 129 ± 1 μmol g^{-1}. Para los

materiales NZ-CB-S y NZ-CB-S1 la cantidad promedio de sulfametoxazol incorporado es de 24.6 ± 0.2 μmol g^{-1} y 39.0 ± 0.3 μmol g^{-1}, respectivamente. Como puede notarse los intervalos de confianza (con nivel de confianza de 90 %, empleando el método de Student) en todos los casos son pequeños, lo que habla a favor de la buena repetibilidad del método.

Los materiales compuestos se caracterizaron empleando diferentes técnicas de análisis, antes de lo cual se llevó a cabo la mezcla y homogenización de las diferentes muestras preparadas de forma individual.

En la figura 5.8 se presentan los difractogramas de NZ y los materiales compuestos NZ-surfactante y NZ-surfactante-fármaco. La similitud de los patrones de difracción de rayos X de los materiales compuestos con el del material de partida indica, como era de esperar, que la estructura de la clinoptilolita no se afecta como resultado de los tratamientos efectuados.

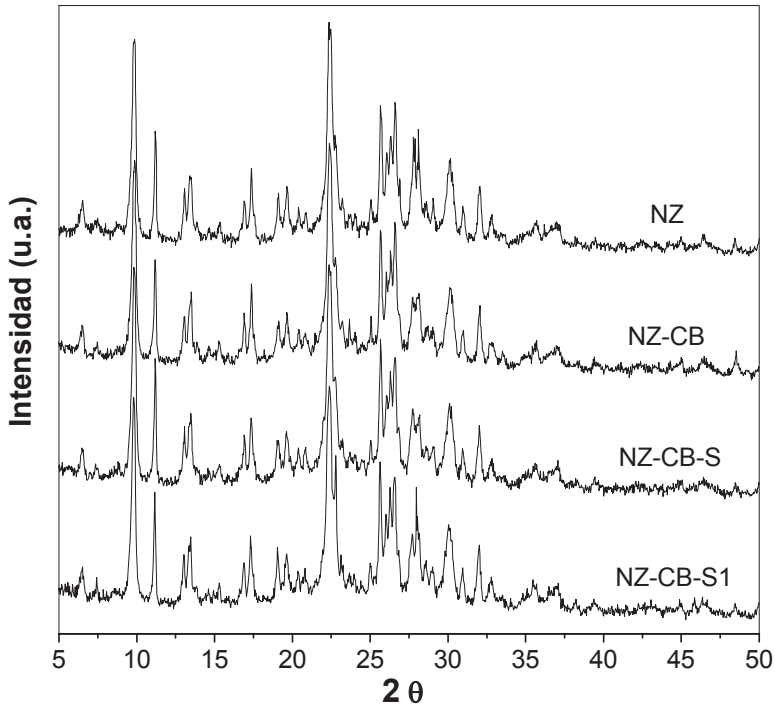


Figura 5.8 Patrones de difracción de rayos X de NZ y los materiales compuestos NZ-CB, NZ-CB-S, y NZ-CB-S1.

En la figura 5.9 se presentan los espectros IR de transmitancia de la clinoptilolita natural, los materiales compuestos NZ-CB y NZ-CB-S1, el CB y el sulfametoxazol. La asignación de las bandas de la clinoptilolita según Flanigen y col. [165], se presenta en la tabla 5.2.

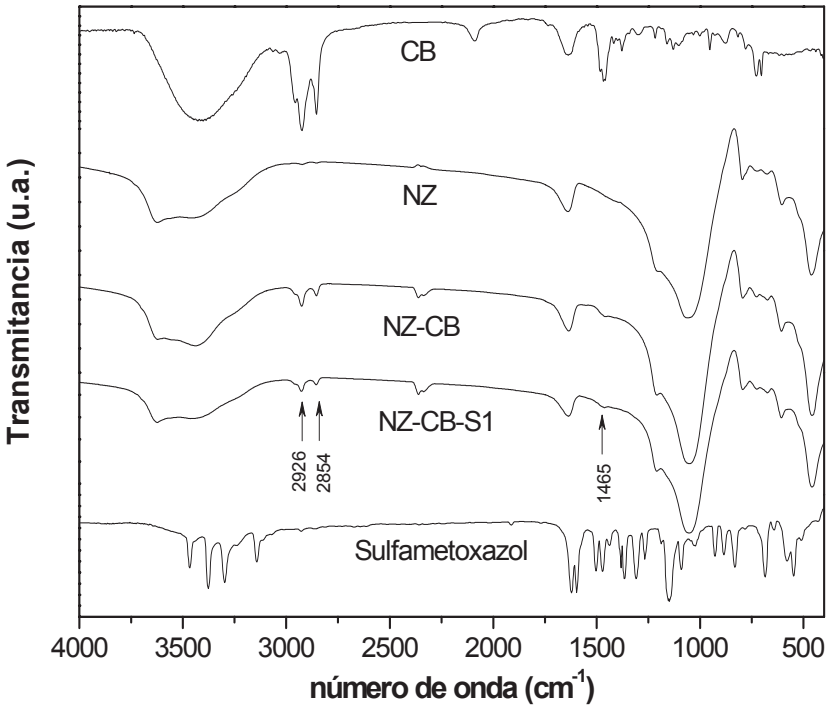


Figura 5.9 Espectros FT-IR de transmitancia de la clinoptilolita natural NZ, los materiales compuestos NZ-CB y NZ-CB-S1, el cloruro de benzalconio y el sulfametoxazol.

Tabla 5.2 Asignación y posición de las bandas IR de la clinoptilolita.

Tipo de vibración	Nomenclatura	Posición (cm^{-1})	Intensidad
vibraciones de doblaje del H_2O	$\delta(H_2O)$	1635-1650	Media
vibraciones internas asimétricas de valencia de los enlaces T-O	$\nu as(T\text{-}O)$	1203-1210	Hombro
vibraciones externas asimétricas de valencia de los tetraedros TO_4	$\nu as(T\text{-}O_4)$	1040-1057	Fuerte
vibraciones externas simétricas de valencia de los enlaces T-O	$\nu s(T\text{-}O)$	776-798	Débil
vibraciones de valencia de las cadenas de aluminosilicatos	$\nu(Al\text{-}Si)$	520-615	Media
vibraciones internas de doblaje de los tetraedros TO_4	$\delta\ (T\text{-}O_4)$	451-471	Fuerte

Si se comparan los espectros de los materiales compuestos con el espectro de NZ se puede notar que no hay variaciones en las frecuencias de las bandas características de la clinoptilolita, por lo que no se afectan sus modos de vibración por la presencia en los materiales del surfactante y el fármaco. Lo anterior indica que la estructura de la clinoptilolita permanece inalterada después de las modificaciones efectuadas, algo ya observado por difracción de rayos X. Sin embargo, en los espectros de los materiales compuestos aparecen tres nuevas bandas que denotan la presencia del

cloruro de benzalconio. Las bandas a 2926 cm^{-1} y 2854 cm^{-1}, que están asociadas a las vibraciones de valencia carbono-hidrógeno de la cadena hidrocarbonada del surfactante, y la banda a 1465 cm^{-1}, correspondiente a los doblajes carbono-hidrógeno de los grupos metilo y metileno.

La presencia de sulfametoxazol en los materiales compuestos no pudo ser detectada por espectroscopía IR, debido a que las principales bandas de vibración de la molécula del fármaco están interferidas por las bandas de la matriz zeolítica (ver figura 5.9). Este resultado esta en buen acuerdo con estudios previos [20], donde se emplea una metodología de preparación diferente para obtener los materiales compuestos.

En la figura 5.10 se presentan los espectros ultravioleta visible de reflectancia difusa (UV-VIS-RD) de los materiales NZ-CB, NZ-CB-S, y NZ-CB-S1, luego de la sustracción del espectro de NZ, que fue tomada como muestra de referencia. En el espectro de NZ-CB la banda a 215 nm denota la presencia del cloruro de benzalconio en el material. En los materiales compuestos que contienen al fármaco, NZ-CB-S y NZ-CB-S1, aparece una banda de absorbancia adicional a 290 nm, que sugiere la presencia de sulfametoxazol. O sea, que la espectroscopía UV-VIS-RD, a diferencia de la espectroscopía IR de transmitancia, si permite constatar la presencia del fármaco en los materiales.

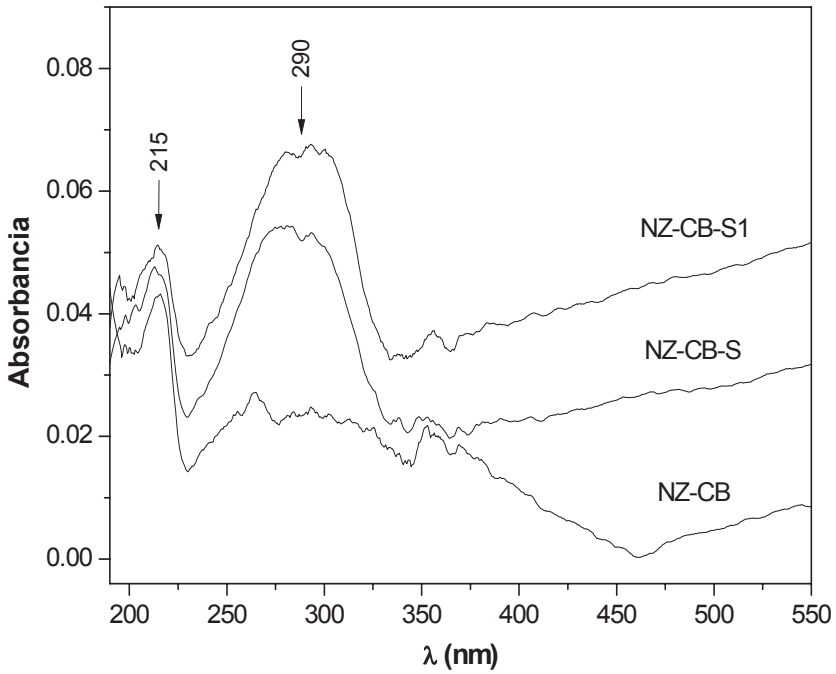


Figura 5.10 Espectros UV de reflectancia difusa de los materiales compuestos NZ-CB, NZ-CB-S, y NZ-CB-S1. Los gráficos mostrados son la diferencia entre el espectro de cada material compuesto y el espectro de NZ.

En la figura 5.11 se presentan los diagramas TG/DTG de la zeolita, el surfactante, el fármaco, y los materiales compuestos NZ-CB y NZ-CB-S1.

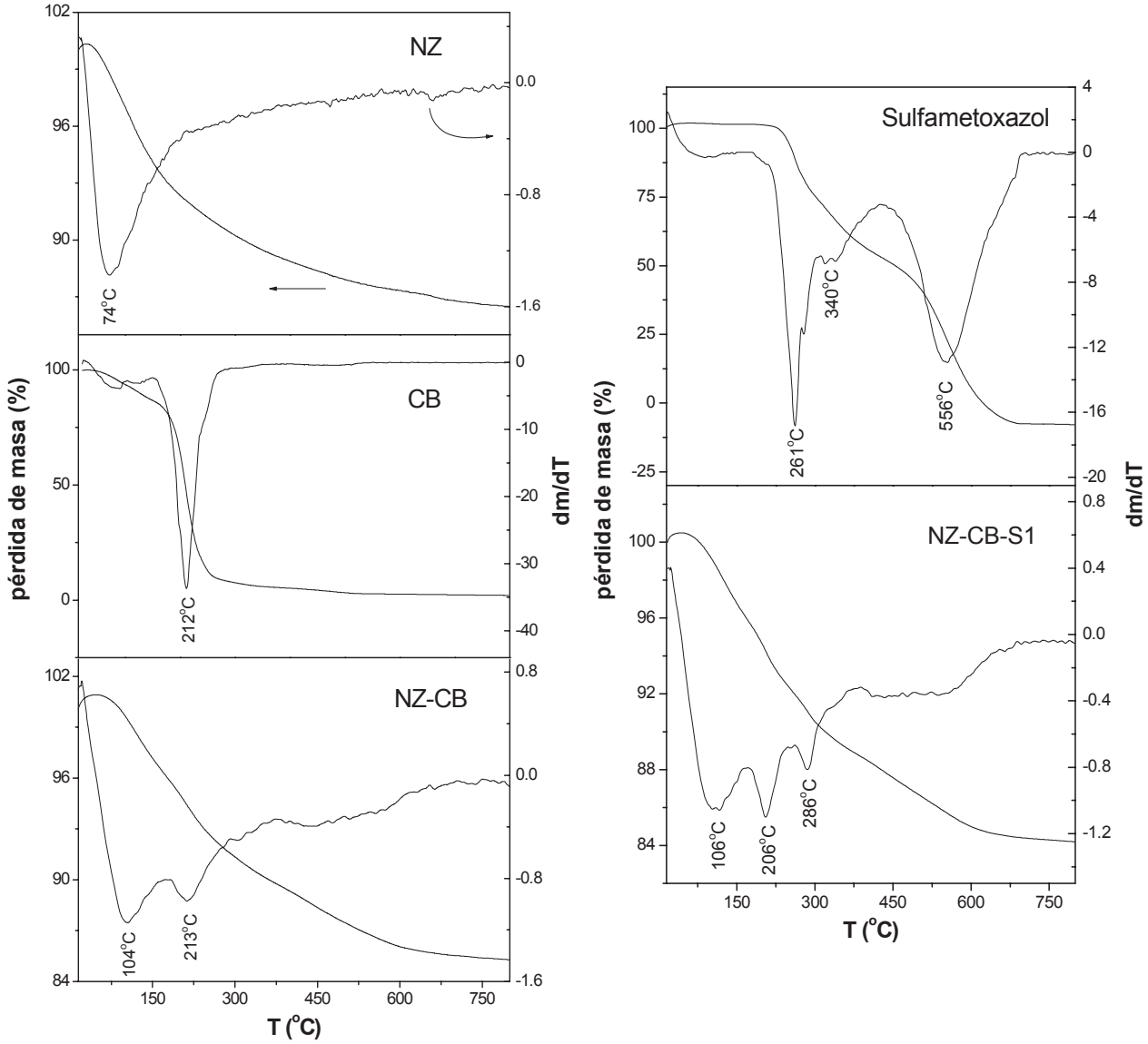


Figura 5.11 Diagramas TG/DTG (registrados a 10 K min^{-1}) de NZ, CB, NZ-CB, sulfametoxazol y NZ-CB-S1.

En el material zeolítico NZ tiene lugar una primera pérdida de agua entre 25 y 230 °C, que se asocia con el agua físicamente adsorbida. A mayores temperaturas se pierde, de forma progresiva, el agua coordinada a los cationes de compensación [24]. El diagrama del cloruro de benzalconio presenta dos picos de pérdida de masa. El primero corresponde a la pérdida de agua (13 %), y ocurre en un rango de temperaturas entre 25 y 140 °C. El segundo pico de pérdida de masa, entre 147 y 286 °C, corresponde a la descomposición del surfactante. El sulfametoxazol por su parte presenta tres picos

de pérdida de masa en el diagrama DTG a 261, 340, y 556 ^{o}C. Según lo reportado en la literatura el primer pico corresponde a la oxidación con descomposición del compuesto, y los otros dos a la descomposición térmica final que ocurre en dos pasos [20,166]. Vale la pena notar que no se encuentran reportes en la literatura con relación a las reacciones químicas de oxidación y descomposición de ambos compuestos orgánicos.

En la tabla 5.2 se presentan la temperatura de cada efecto térmico y el porciento de masa evolucionado en cada caso para las diferentes muestras analizadas. Los dos picos de descomposición del sulfametoxazol no aparecen bien definidos en el diagrama TG/DTG del material compuesto que contiene al fármaco, por lo que los datos relacionados con los mismos no se reportan en la tabla.

Tabla 5.2 Temperatura de los picos de DTG y pérdida de masa asociada para el CB, sulfametoxazol, NZ, NZ-CB y NZ-CB-S1.

Muestra	Pérdida de agua de NZ		Descomposición del CB		Oxidación del fármaco	
	T (^{o}C)	Pérdida de masa (%)	T (^{o}C)	Pérdida de masa (%)	T (^{o}C)	Pérdida de masa (%)
CB	--	--	212	78.9	--	--
Sulfametoxazol	--	--	--	--	261	26.3
NZ	74	8.69	--	--	--	--
NZ-CB	104	4.4	213	4.6	--	--
NZ-CB-S1	106	4.4	206	3.8	286	2.5

En el material compuesto NZ-CB el pico de pérdida de agua de la zeolita aparece a 104 ^{o}C, o sea, a una temperatura superior en 30 ^{o}C si se compara con el diagrama DTG de NZ (ver figura 5.11 y tabla 5.2). Además, el porciento de pérdida de masa asociado con este efecto térmico se reduce aproximadamente a la mitad (tabla 5.2). Ambos hechos están relacionados con la presencia del CB en el material. Cuando el surfactante se adsorbe en la superficie de NZ, por un lado, desplaza parte del agua físicamente adsorbida en la misma, y por otro, dificulta la salida del agua remanente en el material. En el diagrama DTG de esta muestra aparece además un pico de pérdida de masa a 213 ^{o}C, que corresponde a la descomposición del surfactante. Teniendo en cuenta el porciento de pérdida de masa de este pico se calculó la cantidad de surfactante presente en el material, que resultó ser de 137 μmol por gramo de NZ. Este valor es absolutamente coherente con el determinado a través del análisis, por espectroscopía UV, de las disoluciones antes y después de la interacción entre NZ y el CB (129 μmol g^{-1}).

En el diagrama DTG del material compuesto NZ-CB-S1 (figura 5.11) aparecen tres picos de pérdida de masa a temperaturas de 106 ^{o}C, 206 ^{o}C y 286 ^{o}C, que corresponden a la pérdida de agua de la zeolita, la descomposición del surfactante y la oxidación del sulfametoxazol, respectivamente. Al igual que en el material NZ-CB, en el diagrama DTG de la muestra NZ-CB-S1, el pico de pérdida de agua de la zeolita aparece a mayor temperatura, y la masa evolucionada es menor que en NZ. Es interesante notar que la descomposición del surfactante ocurre ahora a menores temperaturas, lo que indica que la presencia de sulfametoxazol adsolubilizado hace menos estables térmicamente a los agregados superficiales de CB. Al comparar las curvas de DTG del sulfametoxazol y la muestra NZ-CB-S1, puede notarse que el pico de oxidación del sulfametoxazol aparece a una temperatura superior (en aproximadamente 25 ^{o}C) en el material compuesto, lo que ocurre luego de que el CB se ha descompuesto. O sea, este corrimiento hacia temperaturas superiores no habla de la estabilidad del fármaco formando parte del material compuesto, sino que sugiere que el sulfametoxazol se encuentra en un estado más estable que en su forma pura.

Por otra parte, no fue posible calcular de forma confiable la cantidad de sulfametoxazol presente en el material NZ-CB-S1, ya que los picos de descomposición del compuesto no están bien definidos, y el pico de oxidación pudiera estar afectado tanto por la descomposición del surfactante como por la descomposición del fármaco.

5.4 Ensayos preliminares de la liberación de sulfametoxazol

En la figura 5.12 se presenta el perfil de liberación de sulfametoxazol del material compuesto NZ-CB-S1, en forma de polvo, empleando como medio de disolución ácido clorhídrico de concentración 0.1 mol L^{-1}. Como puede observarse hay una liberación inicial del fármaco muy rápida. Durante la primera hora de interacción alrededor del 70 % del sulfametoxazol abandona el sólido. Sin embargo, a partir de este tiempo el comportamiento es diferente, observándose una liberación de fármaco muy lenta en la medida en que transcurre la interacción con el medio de disolución. Es interesante notar que hay un 10 % del fármaco que no se ha liberado del material después de las 11 horas de interacción estudiadas.

Este estudio de liberación indica que la adsorción del sulfametoxazol en el material compuesto es reversible, y que el fármaco modelo ensayado puede ser liberado del material en forma gradual. Puede ser mencionado también que, la rápida velocidad de liberación inicial se pudiera modificar preparando pastillas prensadas del material compuesto, lo que permitiría una liberación más lenta del fármaco en el tiempo.

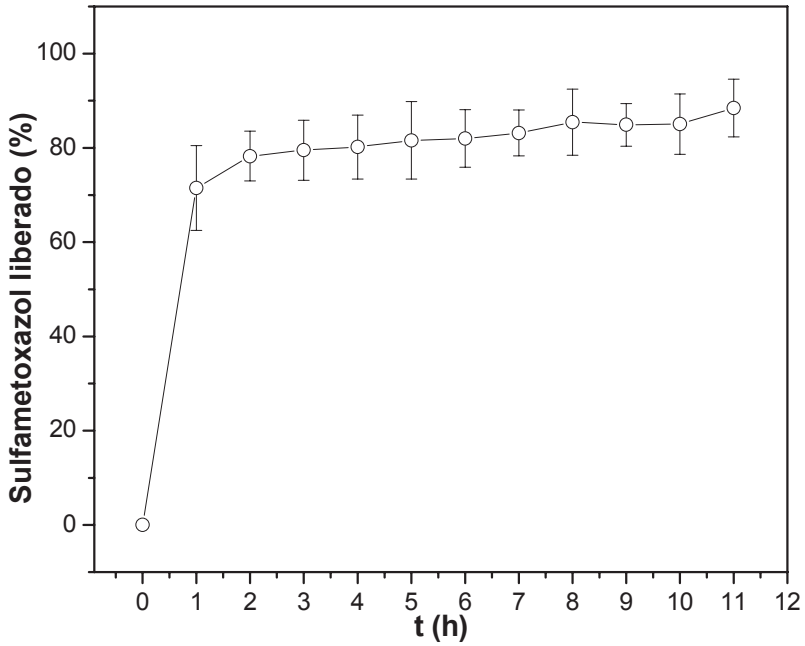


Figura 5.12 Porciento de sulfametoxazol liberado del material compuesto NZ-CB-S1, en función del tiempo. Las barras de error en el gráfico corresponden a la desviación estándar de dos réplicas realizadas bajo idénticas condiciones experimentales.

5.5 Conclusiones del capítulo

- Se demostró que la adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ es dependiente del tiempo, la temperatura, la fuerza iónica y el pH del medio. Los resultados indican que la quimisorción – intercambio iónico entre los cationes presentes en NZ y la cabeza con carga positiva del surfactante– es el mecanismo por el cual tiene lugar la adsorción de CB en NZ.

- Se determinó que los mejores parámetros para la preparación de los materiales compuestos zeolita-surfactante y zeolita-surfactante-fármaco son: t = 6 h, T = 30 ^{o}C, y pH = 10.

- La caracterización de los materiales compuestos zeolita-surfactante y zeolita-surfactante-fármaco, confirmó la presencia de CB y sulfametoxazol en los mismos, así como la estabilidad estructural de NZ frente a los tratamientos efectuados.

- Los resultados de los estudios preliminares de liberación de sulfametoxazol del material compuesto NZ-CB-S1 demostraron que el fármaco se libera muy rápidamente al inicio y luego la velocidad de liberación disminuye notablemente al transcurrir el tiempo.

En concordancia con el objetivo general de la tesis, se caracterizaron los procesos de solubilización de fármacos en surfactantes, de adsorción de surfactantes y co-adsorción de fármacos en la clinoptilolita natural purificada (NZ) y formas modificadas de la misma, mediante el empleo de un conjunto de técnicas de análisis químico-físicas, incluyendo la caracterización de los materiales resultantes. Los estudios indicaron la potencialidad de los materiales compuestos NZ-CB como materiales soportes de medicamentos, en particular de fármacos de baja polaridad.

Las conclusiones relacionadas con los objetivos específicos de la tesis se pueden resumir como sigue:

1) • Los estudios de solubilización de los fármacos modelos, sulfametoxazol y metronidazol, por las micelas de surfactantes catiónicos de la familia del cloruro de benzalconio demostraron que el fármaco menos polar, sulfametoxazol, es solubilizado en medio acuoso por los surfactantes, ubicándose en la región centro exterior de las micelas. Mientras que el metronidazol no se solubiliza.
   • Se demostró además que la micelización del surfactante CB12 es un proceso exotérmico, que se hace menos exotérmico en presencia del sulfametoxazol, y que está regido por el aumento en la entropía del sistema, tanto en ausencia como en presencia del fármaco.

2) • Se evidenció una fuerte afinidad entre los surfactantes catiónicos estudiados y la superficie cargada negativamente de la zeolita.
   • Se demostró que las formas modificadas de NZ tienen una menor capacidad de adsorción de CB, por lo que la clinoptilolita natural purificada, sin modificación adicional, es el material zeolítico adecuado para preparar materiales compuestos mediante la adsorción de surfactantes catiónicos.

3) Se demostró que es indispensable la adsorción de CB o CB12 en NZ para la captura de fármacos poco polares, como el sulfametoxazol.

4) • Se comprobó que la adsorción de CB y sulfametoxazol en NZ es dependiente del tiempo, la temperatura, la fuerza iónica, y el pH del medio. Los resultados de la influencia de la fuerza iónica del medio y la temperatura indicaron que la adsorción de CB en NZ tiene lugar a través de un proceso de intercambio iónico.

• Se pudo concluir que los mejores parámetros para la preparación de los materiales compuestos son: tiempo de interacción de 6 horas, temperatura de 30 ^{o}C y pH de 10 unidades.

5) • Se confirmó, mediante el empleo de diferentes técnicas de análisis, la presencia de CB y sulfametoxazol en los materiales compuestos, así como la estabilidad estructural del soporte zeolítico, NZ.

• Se comprobó además que la adsorción de sulfametoxazol en los materiales compuestos es reversible, por lo que pueden ser empleados como potenciales soportes de fármacos poco polares.

- Con el objetivo de confirmar el mecanismo de adsorción de CB en NZ propuesto en la tesis, se recomienda realizar experimentos que permitan analizar el contenido de cationes en las disoluciones de surfactante antes y después de su interacción con NZ, tanto en función de la concentración de surfactante como del tiempo de interacción.

- Para los estudios de liberación de sulfametoxazol se recomienda realizar los ensayos según las normas establecidas por la USP para la evaluación de este tipo de sistemas. Por ejemplo, utilizar pastillas prensadas del material compuesto NZ-CB-S1, evaluar el comportamiento de la liberación empleando medios de disolución como jugos gástrico e intestinal sintéticos y realizar los ensayos en un disolutor.

- Considerando los conocimientos adquiridos sobre el sistema NZ-CB se recomienda preparar materiales soportes de otros fármacos poco solubles en agua y de los cuales se requieran dosis relativamente bajas.

- Sobre la base de los resultados obtenidos se recomienda explorar el uso de los materiales NZ-CB en la separación y purificación de mezclas en la industria farmacéutica.

- Sobre la base de la aplicabilidad de los productos zeolíticos propuestos se recomienda someterlos a estudios toxicológicos y de estabilidad integral (química, física y microbiológica), como requisito para la elaboración de un producto farmacéutico terminado, listos para ser sometidos más tarde a los tests *in vivo* correspondientes.

[1] K. Pavelic, B. Subotic, M. Colic, Biomedical applications of zeolites, in: A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, J. Vedrine (Eds.), Zeolites and Mesoporous Materials at the Dawn of the 21st Century, Stud. Surf. Sci. Catal., Elsevier, Amsterdam, 2001, p. 32–O–01.
[2] W.G. Pond, Zeolites in animal nutrition and health: a review, in: D.W. Ming, F.A. Mumpton (Eds.), Natural Zeolite'93: Occurrence, Properties, Use, International Committee on Natural Zeolites, Brockport, NY, 1995, p. 449.
[3] K. Pavelic, M. Hadzija, L. Bedrica, J. Pavelic, I. Dikic, M. Katic, M. Kralj, M.H. Bosnar, S. Kapitanovic, M. Poljak-Blazi, S. Krizanac, R. Stojkovic, M. Jurin, B. Subotic, M. Colic, Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy, J. Mol. Med. 78 (2001) 708.
[4] K. Pavelic, M. Katic, V. Sverko, T. Marotti, B. Bosnjak, T. Balog, R. Stojkovic, M. Radacic, M. Colic, M. Poljak-Blazi, Immunostimulatory effect of natural clinoptilolite as a possible mechanism of its antimetastatic ability, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 128 (2002) 37.
[5] J. Tillán, V. Bueno, R. Simón, J. Iturria, Y. Cabrera, M. Ortíz, Toxicidad subcrónica de la zeolita, Reporte Interno, Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos, La Habana, 1991.
[6] A. Rivera, T. Farías, L.C. de Ménorval, A.R. Ruiz-Salvador, Preliminary characterization of drugs support systems based on natural clinoptilolite, Micropor. Mesopor. Mat. 61 (2003) 249.
[7] Norma Cubana NC 625: 2008. Zeolitas Naturales - Requisitos, Oficina Nacional de Normalización.
[8] G. Rodríguez-Fuentes, M.A. Barrios, A. Iraizoz, I. Perdomo, B. Cedré, Enterex: anti-diarrheic drug based on purified natural clinoptilolite, Zeolites 19 (1997) 441.
[9] G. Rodríguez-Fuentes, A. Iraizoz, M.A. Barrios, A. Rivera, B. Concepción-Rosabal, J.C. Torres, R. Simóm, I. Perdomo, V. Zaldivar, A.R. Ruíz-Salvador, B. Cedré, M. Mir, A. Lam, M. Gener, Pharmacological action of modified natural clinoptilolite, in: Zeolite'97: Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites (Program and Abstracts), De Frede, Naples, 1997, p. 258.
[10] G. Rodríguez-Fuentes, A. Rivera, M.A. Barrios, A. Iraizoz, Antacid drug based on purified natural clinoptilolite, Micropor. Mesopor. Mat. 94 (2006) 200.
[11] A. Rivera, G. Rodríguez-Fuentes, E. Altshuler, Characterization and neutralizing properties of a natural zeolite/Na_2CO_3 composite material, Micropor. Mesopor. Mat. 24 (1998) 51.
[12] B. Concepción-Rosabal, J. Balmaseda-Era, G. Rodríguez-Fuentes, Characterization of Fe^{2+}-containing natural clinoptilolite and its interaction with saccharides, Micropor. Mesopor. Mat. 38 (2000) 161.
[13] R. Simón-Carballo, A. Fleitas, J. Álvarez, G. Rodríguez-Fuentes, Hypocholesterolemic action of cholestine in cholesterol fed animals, in: Zeolite'97: Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites (Program and Abstracts), De Frede, Naples, 1997, p. 106.
[14] R. Simón-Carballo, G. Rodríguez-Fuentes, C. Urbina, A. Fleitas, Study of the reaction of a Ca-clinoptilolite and human bile, in: A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, J. Vedrine (Eds.), Zeolites and Mesoporous Materials at the Dawn of the 21st Century, Stud. Surf. Sci. Catal., Elsevier, Amsterdam, 2001, p. 32-O-03.
[15] M. Rivera-Garza, M.T. Olguin, I. García-Sosa, D. Alcantara, G. Rodríguez-Fuentes, Silver supported on natural mexican zeolite as an antibacterial material, Micropor. Mesopor. Mat. 39 (2000) 431.
[16] R.S. Bowman, G.M. Haggerty, R.G. Huddleston, D. Neel, M.M. Flynn, Sorption of nonpolar organics, inorganic cations, and inorganic anions by surfactant-modified zeolites, in: D.A. Sabatini, R.C. Knox, J.H. Harwell (Eds.), Surfactant Enhanced Remediation of Subsurface Contamination, ACS Symposium Series 594, American Chemical Society, Washington DC, 1995, p. 54.
[17] Z. Li, T. Burt, R. Bowman, Sorption of ionizable organic solutes by surfactant-modified zeolite, Environ. Sci. Technol. 34 (2000) 3756.
[18] K. Hayakawa, A. Dobashi, Y. Miyamoto, I. Satake, Adsolubilization equilibrium of rhodamine B by zeolite/surfactant complexes, in: H. Chon, S.-K. Ihm, Y.S. Uh (Eds.), Progress in Zeolite and Microporous Materials, Stud. Surf. Sci. Catal., Elsevier Science, Amsterdam, 1997, p. 2115.
[19] K. Hayakawa, Y. Mouri, T. Maeda, I. Satake, M. Sato, Surfactant-modified zeolites as a drug carrier and the release of chloroquin, Colloid Polym. Sci. 278 (2000) 553.
[20] A. Rivera, T. Farías, Clinoptilolite-surfactant composites as drug support: a new potential application, Micropor. Mesopor. Mat. 80 (2005) 337.

[21] A. Dakovic, M. Tomasevic-Canovic, G. Rottinghaus, V. Dondur, Z. Masic, Adsorption of ochratoxin A on octadecyldimethyl benzyl ammonium exchanged-clinoptilolite-heulandite tuff, Colloids Surf. B 30 (2003) 157.
[22] M. Vallet-Regi, A. Rámila, R.P. del Real, J. Pérez-Pariente, A new property of MCM-41: drug delivery system, Chem. Mater. 13 (2001) 308.
[23] M.C. Bonferoni, G. Cerri, M. de' Gennaro, C. Juliano, C. Caramella, Zn^{2+}-exchanged clinoptilolite-rich rock as active carrier for antibiotics in anti-acne topical therapy. In-vitro characterization and preliminary formulation studies, Appl. Clay Sci. 27 (2006) 141.
[24] D.W. Breck, Zeolites Molecular Sieves, Wiley, New York, 1974.
[25] Ch. Baerlocher, W. M. Meier, D.H. Olson, Atlas of Zeolite Framework Types, 5th ed., Elsevier Science, New York, 2001.
[26] F.A. Mumpton, La roca mágica: uses of natural zeolites in agriculture and industry, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 96 (1999) 3463.
[27] T. Armbruster, Clinoptilolite-heulandite: applications and basic research, in: A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, J. Vedrine (Eds.), Zeolites and Mesoporous Materials at the Dawn of the 21st Century, Stud. Surf. Sci. Catal., Elsevier, Amsterdam, 2001, p. 13.
[28] G. Vezzalini, The crystal chemistry of natural zeolites: present status, Abstract Book of 4th Euroworkshop on Natural Zeolites: Occurrence, Properties, Use and 5th International Conference of Natural Zeolites, FEZA, Ischia, Italy, 1997, p. 63.
[29] E.M. Flanigen, J.M. Bennett, R.W. Grose, J.P. Cohen, R.L. Patton, R.M. Kirchner, J.V. Smith, Silicalite, a new hydrophobic crystalline silica molecular sieve, Nature 271 (1978) 512.
[30] K. Seff, What can be in the Channels and Cavities of Zeolites, in: H. Chon, S.I. Woo, S.E. Park (Eds.), Recent Advances and New Horizons in Zeolite Science and Technology, Stud. Surf. Sci. Catal., Elsevier Science, 1996, p. 267.
[31] J.R. Boles, E.M. Flanigen, A.G. Gude, R.A. Sheppar, R.L. Hay, F.A. Mumpton, R.L. Surdam, Zeolites in low-grade metamorphic rocks, in: F.A. Mumpton (Ed.), Review in Mineralogy, IV Mineralogy and geology of natural zeolites, Mineralogical Society of America, 1986, p. 103.
[32] D.W. Ming, F.A. Mumpton, Zeolites in soils, Minerals in Soil Environments, Soil Science Society of America, Book Series, USA, 1989, p. 873.
[33] G. Gianneto-Pace, A. Montes-Rendón, G. Rodríguez-Fuentes, Zeolitas. Características, Propiedades y Aplicaciones Industriales, 2da Edición, Ediciones Innovación Tecnológica, 2000.
[34] http://www.iza-structure.org, Comisión de Estructura de la Asociación Internacional de Zeolitas.
[35] J. Cejka, H. van Beekkum, A. Corma, F. Schuth, Introduction to Zeolite Science and Practice, 3rd ed., Elsevier, Amsterdam, 2007.
[36] D.S. Coombs, A. Alberti, T. Armbruster, G. Artioli, C. Colella, E. Galli, J.D. Grice, F. Liebau, J.A. Mandarino, H. Minato, E.H. Nickel, E. Passaglia, D.R. Peacor, S. Quartieri, R. Rinaldi, M. Ross, R.A. Sheppard, E. Tillmanns, G. Vezzalini, Recommended nomenclature for zeolite minerals: report of the subcommittee on zeolites of the International Mineralogical Association, Commission on New Minerals and Mineral Names, Mineralogical Magazine (1998) 533.
[37] F.A. Mumpton, Clinoptilolite redefined, Am. Mineral. 45 (1960) 351.
[38] A. Alietti, G. Gottardi, L. Poppi, The heat behaviour of the cation exchanged zeolites with heulandites structure, Tschermaks. Min. Petr. Mitt. 21 (1974) 291.
[39] A. Alietti, Polymorphism and crystal-chemistry of heulandites and clinoptilolites, Am. Mineral. 57 (1972) 1448.
[40] K. Koyama, Y. Takéuchi, Clinoptilolite: the distribution of potassium atoms and its role in thermal stability, Z. Kristallogr. 145 (1977) 216.
[41] D. Bergero, G.B. Palmegiano, E. Passaglia, B. Sicuro, I. Zoccarato, Acid resistence of natural zeolites utilized in animal feeding, in: Zeolite'97: Occurrence, Properties, and Utilization of Natural Zeolites (Program and Abstracts), De Frede, Naples, 1997, p. 65.
[42] D.C. Grant, M.C. Skirba, A.K. Saha, Removal of radioactive contaminants from West Valley waste streams using natural zeolites, Environ. Prog. 6 (1987) 104.
[43] S.S. Parlat, A.O. Yildiz, H. Oguz, Effect of clinoptilolite on performance of japanese quail (coturnix coturnix japonica) during experimental aflatoxicosis, Br. Poultry J. Sci. 40 (1999) 495.

[44] S.S. Parlat, M. Ozcan, H. Oguz, Biological suppression of aflatoxicosis in japanese quail (coturnix coturnix japonica) by dietary addition of yeast (saccharomyces cerevisiae), Res. Vet. Sci. 71 (2001) 207-211.
[45] W.G. Pond, J.T. Yen, Response of growing swine to dietary clinoptilolite from 2 geographic, Nutr. Rep. Int. 25 (1982) 837.
[46] W.G. Pond, S.M. Laurent, H.D. Orloff, Effect of dietary clinoptilolite or zeolite Na-A on body-weight gain, Zeolites 4 (1984) 127.
[47] M. Hotta, H. Nakajima, K. Yamamoto, M. Aono, Antibacterial temporary filling materials: the effect of adding various ratios of Ag-Zn-zeolite, J. Oral Rehab. 25 (1998) 485.
[48] H. Seidel, P. Bartko, G. Kovac, I. Paulikova, O. Nagy, Effects of haemoperfusion on selected indices of blood biochemistry in sheep, Acta Veterinaria Brno 66 (1997) 213.
[49] Y.C. Huang, Y.C. Yu, T.Y. Lee, Purification of antibodies by zeolite-A, Enzyme Microb. Technol. 17 (1995) 564.
[50] D. Klint, P. Arvidsson, Z. Blum, H. Eriksson, Purification of proteins by the use of hydrophobic zeolite-Y, Protein Expr. Purif. 5 (1994) 569.
[51] H. Eriksson, Removal of toxic preservatives in pharmaceutical preparations of insulin by the use of ultra-stable zeolite Y, Biotechnol. Tech. 12 (1998) 329.
[52] A. Dyer, S. Morgan, P. Wells, C. Williams, The use of zeolites as slow release anthelmintic carriers, J. Helminthol. 74 (2000) 137.
[53] J.A. Thomas, B. Ballantyne, Toxicological assessment of zeolites, J. Am. College Toxicology 11 (1992) 259.
[54] http://www.iza-online.org/natural/Datasheets/Erionite/Erionite.html, Asociación Internacional de Zeolitas, Serie de la Erionita.
[55] A.U. Dogan, M. Dogan, J.A. Hoskins, Erionite series minerals: mineralogical and carcinogenic properties, Environ. Geochem. Health. 30 (2008) 367.
[56] M.A. Barrios-Álvarez, Medicamentos elaborados a partir de la zeolita natural purificada, Tesis de Doctorado en Ciencias Farmacéuticas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, La Habana, 1996.
[57] I. Perdomo-López, A. Cruz-Verdé, A. Iraizoz-Colarte, M.A. Barrios, G. Rodríguez-Fuentes, O. García-Pulpeiro, G. García-Simón, I. Perdomo-López, Ungüento ZZ, antiséptico elaborado con una zeolita natural modificada, Rev. Cubana Farm. 32 (1998) 169.
[58] N. Bogdanchikova, B. Concepción-Rosabal, V. Petranovskii, M. Ávalos-Borja, G. Rodríguez-Fuentes, Different silver states stabilized in natural clinoptilolites, in: A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, J. Vedrine (Eds.), Zeolites and Mesoporous Materials at the Dawn of the 21st Century, Stud. Surf. Sci. Catal., Elsevier, Amsterdam, 2001, p. 01-P-15.
[59] B. Concepción-Rosabal, G. Rodríguez-Fuentes, R. Simón-Carballo, Development and featuring of the zeolitic active principle FZ: a glucose adsorbent, Zeolites 19 (1997) 47.
[60] A. Fleitas-Estévez, M. Derivet-Zarzabal, R. Simón-Carballo, C. Coma-Alfonso, Efecto del glucolit sobre la absorción de glucosa marcada con ^{14}C en ratas wistar, Rev. Cubana Angiol. Cir. Vasc. 2 (2001) 63.
[61] T. Farías, A.R. Ruiz-Salvador, L. Velazco, L.C. de Ménorval, A. Rivera, Preparation of natural zeolitic supports for potential biomedical applications, Mater. Chem. Phys. 118 (2009) 322.
[62] D. Shaw, Introducción a la Química de Superficies y Coloides, Alhambra, S. A., Madrid, 1970.
[63] M.J. Rosen, Surfactants and Interfacial Phenomena, 3rd ed., John Wiley & Sons, New York, 2004.
[64] M.E.L. McBain, E. Hutshinson, Solubilizations, Academic Press, New York, 1955.
[65] N. Muller, Reaction kinetics in micelles, in: E. Cordes (Ed.), Proc. Am. Chem. Symp., Plenum, New York, 1972.
[66] J.C. Eriksson, G. Gillberg, NMR-studies of the solubilization of aromatic compounds in cetyltrimethylammonium bromide solution, Acta Chem. Scand. 20 (1966) 2019.
[67] R. Zana, Aqueous surfactant-alcohol systems: a review, Adv. Colloid Interface Sci. 57 (1995) 1.
[68] R. Atkin, V.S.J. Craig, E.J. Wanless, S. Biggs, Mechanism of cationic surfactant adsorption at the solid-aqueous interface, Adv. Colloid Interface Sci. 103 (2003) 219.
[69] I. Grosse, K. Estel, Thin surfactant layers at the solid interface, Colloid Polym. Sci. 278 (2000) 1000.
[70] J.L. Wolgemuth, R.K. Workman, S. Manne, Surfactant aggregates at a flat, isotropic hydrophobic surface, Langmuir 16 (2000) 3077.

[71] T. Gu, Z. Huang, Thermodynamics of hemimicellization of cetyltrimethylammonium bromide at the silica gel/water interface, Colloids Surf. 40 (1989) 71.
[72] P. Somasundaran, D.W. Fuerstenau, Mechanisms of alkyl sulfonate adsorption at the alumina-water interface, J. Phys. Chem. 70 (1966) 90.
[73] S. Paria, K.C. Khilar, A review on experimental studies of surfactant adsorption at the hydrophilic solid–water interface, Adv. Colloid Interface Sci. 110 (2004) 75.
[74] Z. Li, R.S. Bowman, Counterion effects on the sorption of cationic surfactant and chromate on natural clinoptilolite, Environ. Sci. Technol. 31 (1997) 2407.
[75] Z.H. Li, Sorption kinetics of hexadecyltrimethylammonium on natural clinoptilolite, Langmuir 15 (1999) 6438.
[76] M. Tomasevic-Canovic, A. Dakovic, V. Markovic, D. Stojsic, The effect of exchangeable cations in clinoptilolite and montmorillonite on the adsorption of aflatoxin B-1, J. Serb. Chem. Soc. 66 (2001) 555-561.
[77] Z. Li, Use of surfactant-modified zeolite as fertilizer carriers to control nitrate release, Micropor. Mesopor. Mat. 61 (2003) 181.
[78] R. Daniels, H. Rupprecht, Adsorption and chemical stability of a cationic aggregating ester-propantheline bromide on silica surfaces in aqueous dispersions, Pharm. Res. 2 (1985) 170.
[79] R. Daniels, B. Kerstiens, H. Tiscinger-Wagner, H. Rupprecht, The stability of drugs adsorbates on silica, Drug Dev. Ind. Pharm. 12 (1986) 2127.
[80] M. Strnadova, J. Leimbach, H. Rupprecht, Adsorption of codeine on hydrophilic silica and silica surface modified by hydrophobic groups in the presence of electrolytes, Colloid Polym. Sci. 273 (1995) 687.
[81] J. Jansen, C. Treiner, C. Vaution, F. Puisieux, Surface modification of alumina particles by nonionic surfactants: adsorption of steroids, barbiturates and pilocarpine, Int. J. Pharm. 103 (1994) 19.
[82] J. Jansen, C. Treiner, C. Vaution, Coadsorption of steroids and nonionic surfactants on polystyrene latex particles from aqueous solutions, J. Colloid Interface Sci. 179 (1996) 578.
[83] J. Yao, G. Strauss, Adsorption of cationic surfactants on medical polymers: effects of surfactant and substrate structures, Langmuir 8 (1992) 2274.
[84] S. Budavari, The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 11th ed., Merck and Co., Inc., New Jersey, 1989.
[85] E.G.C. Clarke, Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press, The Pharmaceutical Society of Great Britain, London, 1978.
[86] A. Goodman-Gilman, L.S. Goodman, L.S. Gilman, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 8va Edición, Editorial Médica Panamericana S.A. de C.V., Distrito Federal, 1991.
[87] W. Martindale, The Extra Pharmacopeia, 30th ed., The Pharmaceutical Press, London, 1993.
[88] A.L. Boreen, W.A. Arnold, K. McNeill, Photochemical fate of sulfa drugs in the aquatic environment: sulfa drugs containing five-membered heterocyclic groups, Environ. Sci. Technol. 38 (2004) 3933.
[89] C. Kaparissides, S. Alexandridou, K. Kotti, S. Chaitidou, Recent advances in novel drug delivery systems, J. Nanotechnology 2 (2006) 1.
[90] J.H. O`Haver, H. Jeffrey, Adsolubilization: some expected and unexpected results, in: R. Sharma (Ed.), Surfactant Adsorption and Surface Solubilization, American Chemical Society, Washington DC, 1995, p. 49.
[91] J. Zajac, M. Chorro, C. Chorro, S. Partyka, Application of the calorimetry to studies of colloidal phenomena. Enthalpies of micellization and enthalpies of adsorption of zwitterionic surfactants onto silica gel, J. Thermal Anal. 45 (1995) 781.
[92] J. Zajac, S. Partyka, Recent progress in the studies of adsorption of ionic surfactants from aqueous solutions on mineral substrates, in: A. Dabrowski, V.A. Tertykh (Eds.), Adsorption on new and modified inorganic sorbents, Elsevier, Amsterdam, 1996, p. 797.
[93] S. Lagerge, A. Kamyshny, S. Magdassi, S. Partyka, Calorimetric methods applied to the investigation of divided systems in colloid science, J. Thermal Anal. Cal. 71 (2003) 291.
[94] M.R. Bhambhani, P.A. Cutting, K.S.W. Sing, D.H. Turk, Analysis of nitrogen adsorption isotherms on porous and nonporous silicas by the BET and α_s methods, J. Colloid Interface Sci. 38 (1972) 109.
[95] V.P. Torchilin, Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems, J. Controlled Release 73 (2001) 137.
[96] A.N. Lukyanov, V.P. Torchilin, Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs, Adv. Drug Deliv. Rev. 56 (2004) 1273.

[97] R. Barreiro-Iglesias, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, Controlled release of estradiol solubilized in carbopol/surfactant aggregates, J. Controlled Release 93 (2003) 319.
[98] A. Avranas, E. Malasidou, I. Mandrazidou, Adsorption of cetyldimethylbenzylammonium chloride on octane emulsions droplets: the effect of the presence of tween 80, J. Colloid Interface Sci. 207 (1998) 363.
[99] C. Treiner, A. Makayssi, Structural micellar transition for dilute solutions of long chain binary cationic surfactant systems: a conductance investigation, Langmuir 8 (1992) 794.
[100] J.L. del Castillo, J. Czapkiewicz, J.R. Rodríguez, B. Tutaj, Micellar properties of alkyl-dimethyl-phenyl-ammonium bromides in water, Colloid Polym. Sci. 277 (1999) 422.
[101] A. González-Pérez, J. Czapkiewicz, J.L. del Castillo, J.R. Rodríguez, Micellar properties of long-chain alkyldimethylbenzylammonium chlorides in aqueous solutions, Colloids Surf. A 193 (2001) 129.
[102] A. González-Pérez, J. Czapkiewicz, G. Prieto, J.R. Rodríguez, Second CMC of dodecyl-dimethyl-benzyl-ammonium chloride in aqueous solution at 25 ^{o}C, Colloid Polym. Sci. 281 (2003) 1191.
[103] C.A. Gracia, S. Gómez-Barreiro, A. González-Pérez, J. Nimo, J.R. Rodríguez, Static and dynamic light-scattering studies on micellar solutions of alkyldimethylbenzylammonium chlorides, J. Colloid Interface Sci. 276 (2004) 408.
[104] J.R. Rodríguez, A. González-Pérez, J.L. del Castillo, J. Czapkiewicz, Thermodynamics of micellization of alkyldimethylbenzylammonium chlorides in aqueous solutions, J. Colloid Interface Sci. 250 (2002) 438.
[105] H.B. Klevens, Structure and aggregation in dilute solution of surface active agents, J. Amer. Oil Chemists' Soc. 30 (1953) 74.
[106] G.I. Mukhayer, S.S. Davis, E. Tomlinson, Automated conductimetric titrimeter: use in studying ionic solute-solute interactions, J. Pharm. Sci. 64 (1975) 147.
[107] J.H. Clint, Micellization of mixed nonionic surface active agents, J. Chem. Soc. Faraday Trans. 71 (1975) 1327.
[108] L.T. Okano, F.H. Quina, O.A. El Seoud, Fluorescence and light-scattering studies of the aggregation of cationic surfactants in aqueous solution: effects of headgroup structure, Langmuir 16 (2000) 3119.
[109] J.L. del Castillo, M.J. Suárez-Filloy, A. Castedo, T. Svitova, J.R. Rodríguez, Some physicochemical properties of TTAB-butanol micellar aqueous solutions, J. Phys. Chem. B 101 (1997) 2782.
[110] A. González-Pérez, J.J. Galán, J.R. Rodríguez, Solubilization of butanol in dodecyl-dimethyl-ethyl-ammonium bromide micellar solutions, Fluid Phase Equilibria 224 (2004) 7.
[111] S. Ishii, S. Ishikawa, N. Mizuno, K. Matsuoka, C. Honda, K. Endo, Indomethacin solubilization induced shape transition in C_nE_7 (n = 14, 16) nonionic micelles, J. Colloid Interface Sci. 317 (2008) 115.
[112] N. Sharma, S.K. Jain, R.C. Rastogi, Solubilization of 5-methoxy tryptamine molecular probes in CTAB and SDS micelles: a cmc and binding constant study, Spectrochim. Acta A 69 (2008) 748.
[113] L.Y. Galichet, Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, The Pharmaceutical Press, London, 2004.
[114] A. Lam, A. Rivera, Theoretical study of the interaction of surfactants and drugs with natural zeolite, Micropor. Mesopor. Mat. 91 (2006) 181.
[115] C. Chachaty, Applications of NMR methods to the physical chemistry of micellar solutions, Prog. NMR Spectrosc. 19 (1987) 183.
[116] O. Soderman, P. Stilbs, W.S. Price, NMR studies of surfactants, Concepts Magn. Reson. 23A (2004) 121.
[117] I. Furó, NMR spectroscopy of micelles and related systems, J. Mol. Liq. 117 (2005) 117.
[118] L.T. Okano, O.A. El Seoud, T.K. Halstead, A proton NMR study on aggregation of cationic surfactants in water: effects of the structure of the headgroup, Colloid Polym. Sci. 275 (1997) 138.
[119] A. Lam, A. Rivera, Aggregation process of a benzyl ammonium chloride: molecular dynamics simulation, Submitted to J. Mol. Graphics and Modelling (2009).
[120] B. Rózycka-Roszak, T. Cierpicki, ^{1}H NMR studies of aqueous micellar solutions of N-dodecyl-N,N-dimethyl-N-benzylammonium chloride, J. Colloid Interface Sci. 218 (1999) 529.
[121] S. Shimizu, P.A.R. Pires, O.A. El Seoud, ^{1}H and ^{13}C NMR study on the aggregation of (2-acylaminoethyl)trimethylammonium chloride surfactant in D_2O, Langmuir 19 (2003) 9645.
[122] M.F. Emerson, A. A. Holtzer, Hydrophobic bond in micellar systems. Effects of various additives on the stability of micelles of sodium dodecyl sulfate and of n-dodecyltrimethylammonium bromide, J. Phys.Chem. 71 (1967) 3320.

[123] J.N. Chang, E.W. Kaler, The structure of sodium dodecyl sulfate micelles in solutions of water and deuterium oxide, J. Phys. Chem. 89 (1985) 2996.
[124] R. Chaghi, L.C. de Ménorval, C. Charnay, G. Derrien, J. Zajac, Interactions of phenol with cationic micelles of hexadecyltrimethylammonium bromide studied by titration calorimetry, conductimetry, and ^{1}H NMR in the range of low additive and surfactant concentrations, J. Colloid Interface Sci. 326 (2008) 227.
[125] S.S. Berr, Solvent isotope effects on alkytrimethylammonium bromide micelles as a function of alkyl chain length, J. Phys. Chem. 91 (1987) 4760.
[126] R. Barreiro-Iglesias, C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, Poly(acrylic acid) microgels (carbopol® 934)/ surfactant interactions in aqueous media. Part II: Ionic surfactants, Int. J. Pharm. 258 (2003) 179.
[127] B. Rózycka-Roszak, Micellization of some amphiphilic quaternary ammonium chlorides, J. Colloid Interface Sci. 140 (1990) 538.
[128] S. Shimizu, P.A.R. Pires, W. Loh, O.A. El Seoud, Thermodynamics of micellization of cationic surfactants in aqueous solutions: consequences of the presence of the 2-acylaminoethyl moiety in the surfactant head group, Colloid Polym. Sci. 282 (2004) 1026.
[129] B. Rózycka-Roszak, R. Zylka, T. Kral, A. Przyczyna, Counterion effects on interaction of amphiphilic quaternary ammonium salts with model membranes, Z Naturforsch C. 56 (2001) 407.
[130] I. Cherkaoui, V. Monticone, C. Vaution, C. Treiner, Coadsorption of the sodium salts of two steroid at a silica/interface as induce by the adsorption of a cationic surfactant, Int. J. Pharm. 201 (2000) 71.
[131] G. Chen, B. Han, H. Yan, Interaction of cationic surfactants with iron and sodium montmorrillonite suspensions, J. Colloid Interface Sci. 201 (1998) 158.
[132] T. Kwolek, M. Hodorowicz, K. Stadnicka, J. Czapkiewicz, Adsorption isotherms of homologous alkyl-dimethyl-benzyl-ammonium bromides on sodium montmorillonite, J. Colloid Interface Sci. 264 (2003) 14.
[133] K. Hayakawa, T. Morita, M. Ariyoshi, T. Maeda, I. Satake, Adsoprtion of cationic surfactants on hydrophobic mordenites of different Si/Al ratio, J. Colloid Interface Sci. 177 (1996) 621.
[134] B. Ersoy, M.S. Celik, Effect of hydrocarbon chain length on adsorption of cationic surfactants onto clinoptilolite, Clays Clay Miner. 51 (2003) 173.
[135] M.J. Meziani, J. Zajac, S. Partyka, Adsorption and interfacial aggregation of cationic quaternary ammonium surfactant on powdered mesoporous MCM-41 aluminosilicates from dilute aqueous solution, Langmuir 16 (2000) 8410.
[136] M.J. Meziani, H. Benalla, J. Zajac, S. Partyka, D.J. Jones, Adsorption of a cationic gemini surfactant from aqueous solution onto aluminosilicate powders of the MCM-41 type: effect of pore size and co-adsorption of phenol, J. Colloid Interface Sci. 262 (2003) 362.
[137] T.P. Goloub, L.K. Koopal, Adsorption of cationic surfactants on silica. Comparison of experiment and theory, Langmuir 13 (1997) 673.
[138] J. Zajac, J.L. Trompette, S. Partyka, Adsorption of cationic surfactants on a hydrophilic silica surface at low surface coverages: effects of the surfactant alkyl chain and exchangeable sodium cations at the silica surface, Langmuir 12 (1996) 1357.
[139] G. Rodríguez-Fuentes, A.R. Ruiz-Salvador, M. Mir, O. Picazo, G. Quintana, M. Delgado, Thermal and cation influence on IR vibrations of modified natural clinoptilolite, Micropor. Mesopor. Mat. 20 (1998) 269.
[140] T. Farías, A.R. Ruiz-Salvador, A. Rivera, Interaction studies between drugs and a purified natural clinoptilolite, Micropor. Mesopor. Mat. 61 (2003) 117.
[141] E.J. Sullivan, J.W. Carey, R.S. Bowman, Thermodynamics of cationic surfactant sorption onto natural clinoptilolite, J. Colloid Interface Sci. 206 (1998) 369.
[142] P. Misaelides, A. Godelitsas, F. Link, H. Baummann, Application of the $^{27}Al(p,\gamma)\ ^{28}Si$ nuclear reaction to the characterization of the near-surface layers of acid-treated HEU-type zeolite crystals, Micropor. Mat. 6 (1996) 37.
[143] D. Barthomeuf, Basic zeolites: characterization and uses in adsorption and catalysis, Catal. Rev. Sci. Eng. 38 (1996) 521.
[144] J.B. Nagy, P. Bodart, L. Hannus, I. Kiricsi, Synthesis, Characterization and Use of Zeolitic Microporous Materials, DecaGen Ltd., Szeged, 1998.
[145] T. Wust, J. Stolz, T. Armbruster, Partially dealuminated heulandite produced by acidic $REECl_3$ solution: a chemical and single-crystal X-ray study, Am. Mineral. 84 (1999) 1126.

[146] H. Kurama, A. Zimmer, W. Reschetilowski, Chemical modification effect on the sorption capacities of natural clinoptilolite, Chem. Eng. Technol. 25 (2002) 301.
[147] F. Cakicioglu-Ozkan, S. Ulku, The effect of HCl treatment on water vapor adsorption characteristics of clinoptilolite rich natural zeolite, Micropor. Mesopor. Mat. 77 (2005) 47.
[148] R.M. Barrer, Natural Zeolites: Ocurrence, Properties and Uses, in: L.B. Sand, F.A. Mumpton (Eds.), Natural Zeolites: Ocurrence, Properties and Uses, Pergamon Press, Oxford-New York, 1978, p. 385.
[149] A. Alberti, The crystal structure of two clinoptilolites, Tschermaks Min. Petr. Mitt. 22 (1975) 25.
[150] G. Engelhardt, D. Michel, High resolution solid state NMR of silicates and zeolites, Wiley, New York, 1987.
[151] S. Ramdas, J. Klinowski, A simple correlation between isotropic Si-29-NMR chemical- shifts and T-O-T angles in zeolite frameworks, Nature 308 (1984) 521.
[152] E. Oldfield, R.A. Kinsey, K.A. Smith, J.A. Nichols, R.J. Kirckpatrick, High-Resolution NMR of inorganic solids. Influence of magnetic centers on magic angle sample spinning lineshapes in some natural alluminosilicates, J. Magn. Reson. 31 (1983) 325.
[153] F. Testa, F. Crea, G.D. Diodati, L. Pasqua, R. Aiello, G. Terwagne, P. Lentz, J.B. Nagy, Synthesis and characterization of Fe- and [Fe,Al]-MCM-22 zeolites, Micropor. Mesopor. Mat. 30 (1999) 187.
[154] E. Lippmaa, M. Mägi, A. Samoson, M. Tarmak, G. Engelhardt, Investigation of the structure of zeolites by solid-state high-resolution ^{29}Si NMR spectroscopy, J. Am. Chem. Soc. 103 (1981) 4992.
[155] G.V. Tsitsishvili, T.G. Andronikashvili, G.N. Kirov, L.D. Felizova, Natural Zeolites, Ellis Horwood Limited, London, 1992.
[156] M.A. Hernández, F. Rojas, V.H. Lara, Nitrogen-sorption characterization of the microporous structure of clinoptilolite-type zeolites, J. Porous Mater. 7 (2000) 443.
[157] E. Sabah, M. Turan, M.S. Celik, Adsorption mechanism of cationic surfactants onto acid- and heat-activated sepiolites, Water Res. 36 (2002) 3957.
[158] M.-Y. Chang, R.-S. Juang, Equilibrium and kinetic studies on the adsorption of surfactant, organic acids and dyes from water onto natural biopolymers, Colloids Surf. A 269 (2005) 35.
[159] Y.S. Ho, G. McKay, Pseudo-second order model for sorption processes, Proc. Biochem. 34 (1999) 451.
[160] R. Atkin, V.S.J. Craig, E.J. Wanless, S. Biggs, The influence of chain length electrolyte on the adsorption kinetics of cationic surfactants at the silica-aqueous solution interface, J. Colloid Interface Sci. 266 (2003) 236.
[161] M. Ghiaci, R. Kia, R.J. Kalbasi, Investigation of thermodynamic parameters of cetylpyridinium bromide sorption onto ZSM-5 and natural clinoptilolite, J. Chem. Thermodynamics 36 (2004) 95.
[162] A. Filippidis, A. Godelitsas, D. Charistos, P. Misaelides, A. Kassoli-Fournaraki, The chemical behavior of natural zeolites in aqueous environments, Appl. Clay Sci. 11 (1996) 199.
[163] A. Rivera, G. Rodríguez-Fuentes, E. Altshuler, Time evolution of a natural clinoptilolite in aqueous medium: conductivity and pH experiments, Micropor. Mesopor. Mat. 40 (2000) 173.
[164] B. Ersoy, M.S. Celik, Electrokinetic properties of clinoptilolite with mono- and multivalent electrolytes, Micropor. Mesopor. Mat. 55 (2002) 305.
[165] E.M. Flanigen, H. Khatami, Infrared structural studies of zeolite frameworks, Adv. Chem. Ser. 101 (1974) 201.
[166] N.S. Fernandes, M.A. da Silva Carvalho Filho, R.A. Mendes, M. Ionashiro, Thermal decomposition of some chemotherapic substances, J. Braz. Chem. Soc. 10 (1999) 459.
[167] O.E. Petrov, Cation exchange in clinoptilolite: an X-ray powder diffraction analysis, in: D. W. Ming, F.A. Mumpton (Eds.), Natural Zeolite'93: Occurrence, Properties, Use, International Committee on Natural Zeolites, Brockport, NY, 1995, p. 271.

Anexo A1: Anexo A de la Norma Cubana NC 625: 2008. Zeolitas Naturales – Requisitos, publicada por la Oficina Nacional de Normalización

Anexo A
(normativo)

Requisitos de la Zeolita Natural para la salud y nutrición humana y animal

En este Anexo se establecen los requisitos de calidad que deben tener las zeolitas naturales para su utilización como materia prima en la industria farmacéutica para la formulación de medicamentos, productos preparados en dispensarios, en la formulación de cosméticos, como aditivo a dietas.

A.1 Generalidades

A.1.1 El sector del yacimiento destinado a servir de materia prima para la salud y nutrición humana y animal se selecciona, aísla, protege y controla de manera especialmente rigurosa para lo cual la industria extractiva confeccionará un proyecto de explotación específico para este sector, el cual será aprobado por Oficina Nacional de Recursos Minerales de la Republica de Cuba con el objetivo de evitar cualquier tipo de contaminación.

A.1.2 El procesamiento industrial de la mena destinada a la salud y nutrición humana y animal se procesará en forma de lotes independientes, para evitar cualquier tipo de contaminación o mezcla con otros minerales o productos. El productor normará los pasos del proceso atendiendo a las Buenas Prácticas de Producción de materias primas para la salud y nutrición humana y animal, incluido el almacenaje de la mena y productos intermedios, el control del proceso tecnológico y los parámetros de operación, evitando la contaminación con sustancias tóxicas o que constituyan un riesgo biológico.

A.1.3 Las acciones farmacológicas de la zeolita natural se han establecido como: antidiarreico, antiácido y adsorbente; asociada o modificada con otras sustancias tiene acciones: hipo-colesteremiante, anti-hiperglicemiante y microbicida. Acondicionada convenientemente se utiliza como soporte de liberación controlada de otras sustancias con acción farmacológica.

A.1.4 Los estudios toxicológicos a que debe ser sometida la mena para la salud y nutrición animal y humana, serán indicados y aprobados sus resultados por las autoridades competentes de la salud de la República de Cuba, o por la agencia de control de medicamentos del país donde se utilizará.

A.2 Requisitos

A.2.1 Requisitos organolépticas

- Color: Verde grisáceo
- Olor: Inodoro

A.2.2 Requisitos físicos

- Humedad: máximo 10%
- Granulometría: según el uso y a solicitud del cliente
- Densidad real: 1,4 g/cm^3 - 1,6 g/cm^3
- Densidad aparente: 0,6 g/cm^3 - 0,8 g/cm^3

A.2.3 Requisitos mineralógicos

Las fases minerales que pueden estar presentes en la mena zeolítica deben corresponder a la señalada en la Tabla 1.

Tabla 1— Composición de las fases minerales presentes en la mena zeolítica

FASE MINERAL	CONTENIDO [% en peso]
Clinoptilolita-Heulandita (min.)	65,0
Mordenita (máx.)	5,0
Total fases zeolíticas (min.)	70,0
Calcita (máx.)	5,0

A.2.4 Requisitos de la composición química

A.2.4.1 Requisitos de los elementos nocivos

Los elementos nocivos deben estar presentes por debajo de los límites señalados en la Tabla 2, los cuales serán determinados por los métodos referenciados.

Tabla 2 – Contenido de elementos nocivos

ELEMENTOS NOCIVOS	CONTENIDO [g/t]
F	< 200
Pb	< 10
As	< 3
Cd	< 2
Hg	< 5
Dioxinas	<1

A.2.4.2 Las determinaciones correspondientes a la comprobación del contenido de elementos nocivos se realizarán una vez para cada lote.

Bibliografía

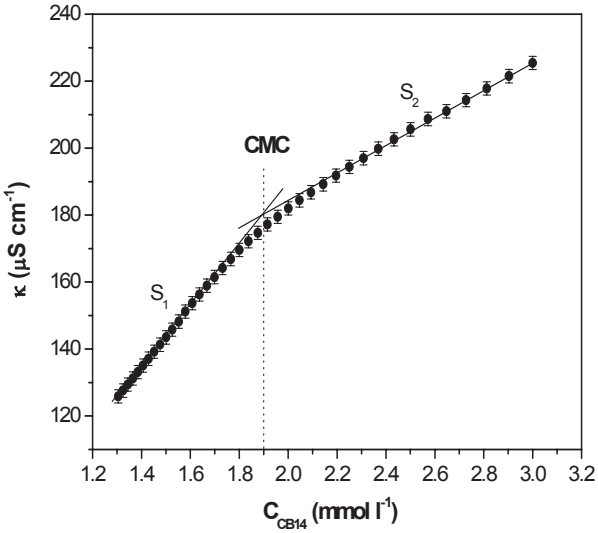
[1] NC-ISO/ IEC Guía 7:1996 Directrices para la redacción de las normas utilizables para la evaluación de la conformidad.

[2] NC Guía 333:2004 Guía para la redacción de normas de productos.

[3] NC 1:2005 Reglas para la estructura, redacción y edición de las normas cubanas y otros documentos relacionados.

Anexo A2: Fundamento teórico de la determinación de la concentración micelar crítica y el grado de ionización a partir de mediciones de conductividad específica en función de la concentración de surfactante

El cambio en la conductividad de una disolución acuosa de un surfactante iónico a la CMC es debido al diferente grado de ionización del surfactante por debajo y por encima de la CMC (las micelas están parcialmente ionizadas). Si se asume que las disoluciones acuosas de surfactante obedecen la ley de Kohlrausch, la conductividad específica, κ, de una disolución de surfactante puede ser calculada en términos de la conductividad iónica molar de los iones: $\lambda_i = z_i \mu_i F$, donde z y μ son la carga y la movilidad del ión y F es la constante de Faraday.



Evolución de la conductividad específica del surfactante CB14 en función de su concentración a 298 K.

Cuando la concentración de surfactante es menor que la CMC no hay micelas en disolución y la conductividad específica de una disolución de un surfactante iónico por ejemplo el CB14, estará dada por la contribución independiente de la conductividad de los aniones (Cl^-) y los cationes orgánicos (B^+):

$$\kappa = (\lambda_{Cl} + \lambda_B)C = S_1 C \qquad (1)$$

donde: C es la concentración total de surfactante y S_1 es la pendiente del gráfico de κ *vs.* C en la región pre-micelar (ver figura).

Cuando la concentración de surfactante es superior a la CMC la conductividad específica usualmente disminuye. Esto puede ser explicado por la inclusión en la micela de los contra-iones. La fracción de contra-iones unidos a la micela con respecto al número de monómeros de surfactante en la micela (N_{ag}) se denomina grado de asociación y se denota como β. El grado de ionización de las micelas, α, es igual a 1 - β. Teniendo en cuenta lo anterior, la concentración de contra-iones libres (aniones Cl^-) en disolución vendrá dada por la siguiente expresión: $C(Cl^-)_l = CMC + \alpha C_m$, donde $C_m = C - CMC$.

La conductividad específica de una disolución acuosa a concentraciones superiores a la CMC es debida a la contribución de tres componentes: la debida a los iones a la CMC (Cl^- y B^+), la debida a las micelas como iones, y la debida a los iones Cl^- libres o en exceso, y puede ser escrita como:

$$\kappa = (\lambda_{Cl} + \lambda_B)CMC + \lambda_{Cl}\alpha C_m + \lambda_{mic}C_{mic} \qquad (2)$$

donde: C_{mic} es la concentración de micelas y λ_{mic} es la conductividad equivalente de las micelas.

Teniendo en cuenta que $C_{mic} = (C - CMC)/N_{ag}$ y asumiendo que la contribución de la micela a la conductividad es la misma que la de un número equivalente de iones de monómero, la suma de cuyas cargas es igual a la carga de la micela, entonces $\lambda_{mic} = \alpha N_{ag}\lambda_B$ y la ecuación (2) se puede rescribir como sigue:

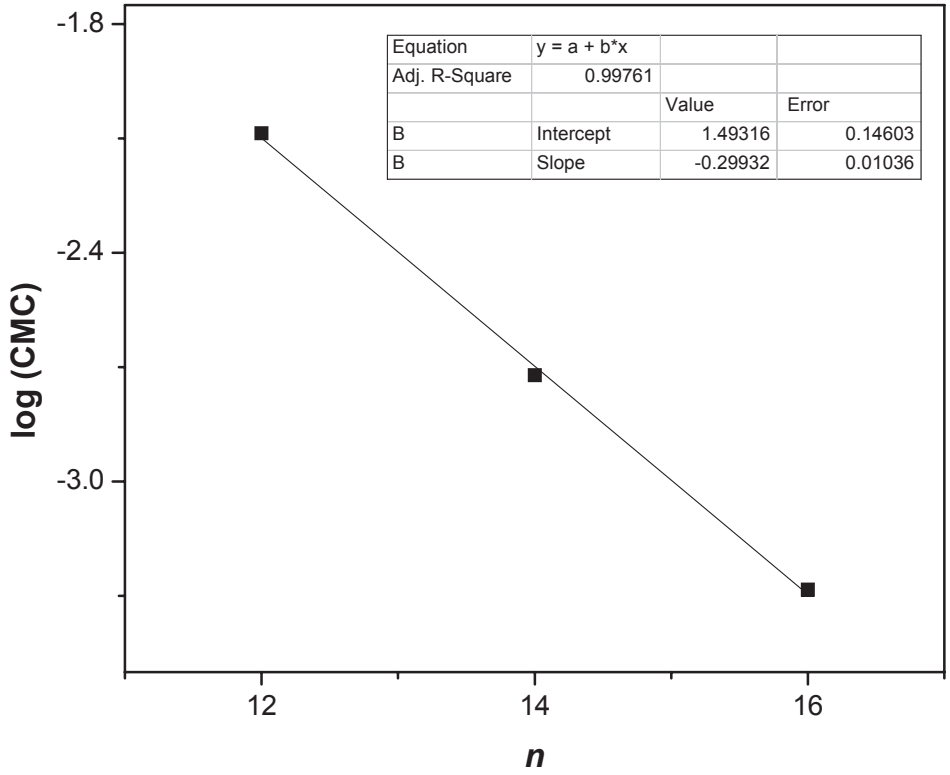
$$\kappa = (\lambda_{Cl} + \lambda_B)CMC(1 - \alpha) + (\lambda_{Cl} + \lambda_B)\alpha C \qquad (3)$$

la cual es la ecuación de la línea recta del gráfico de κ *vs.* C en la región post-micelar, con intercepto $\kappa_o = (\lambda_{Cl} + \lambda_B)CMC(1 - \alpha)$ y pendiente $S_2 = (\lambda_{Cl} + \lambda_B)\alpha$

Puede notarse que $S_2 = S_1\alpha$., o sea, $\alpha = S_2/S_1$. El valor de CMC puede ser determinado del intercepto entre las dos líneas rectas definidas por las ecuaciones (1) y (3).

Anexo A3: Dependencia de la concentración micelar crítica con el largo de la cadena hidrocarbonada del surfactante

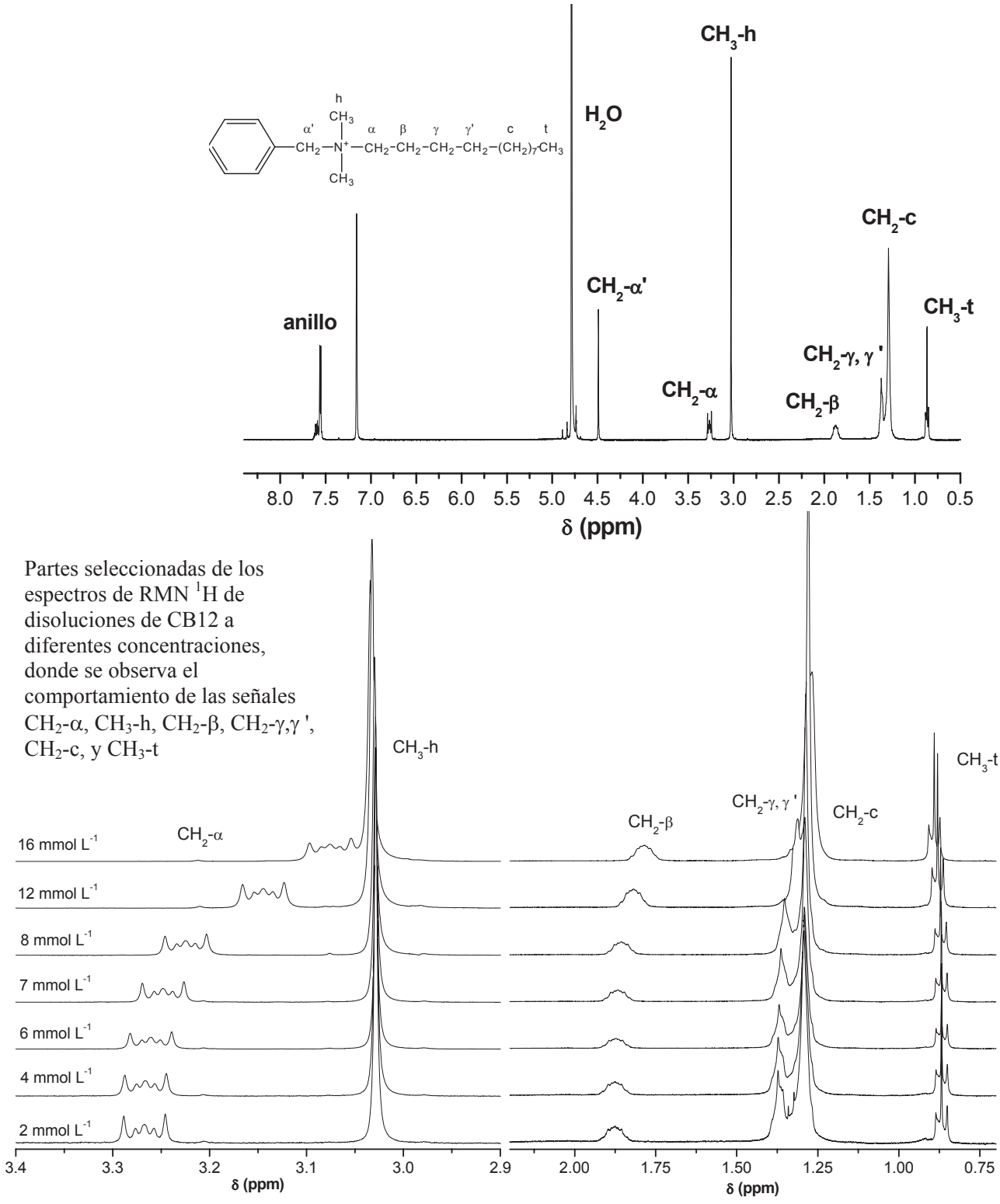
En el siguiente gráfico se presenta la dependencia del logaritmo de la concetración micelar crítica (CMC), con el número de átomos de carbono de la cadena hidrocarbonada, para los surfactantes de la serie homóloga cloruro de alquildimetilbencilamonio, a 298 K.

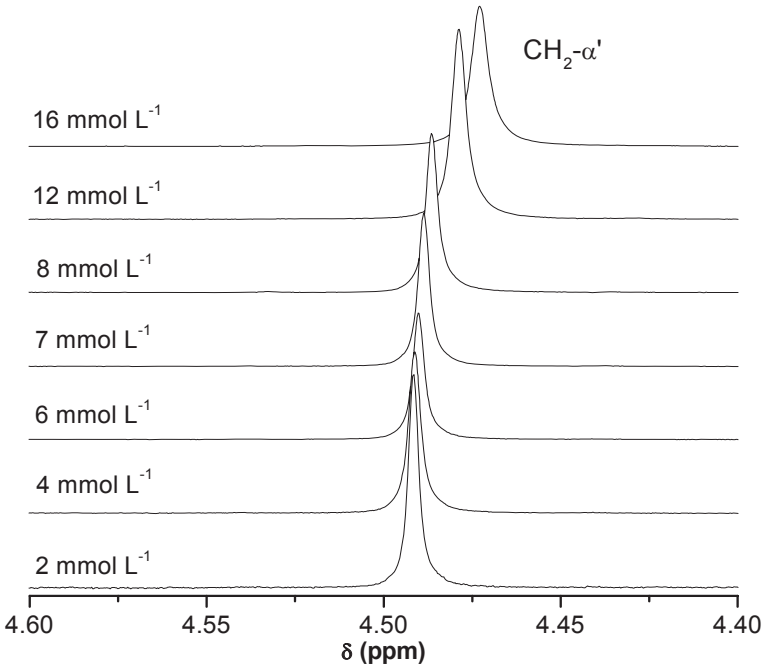


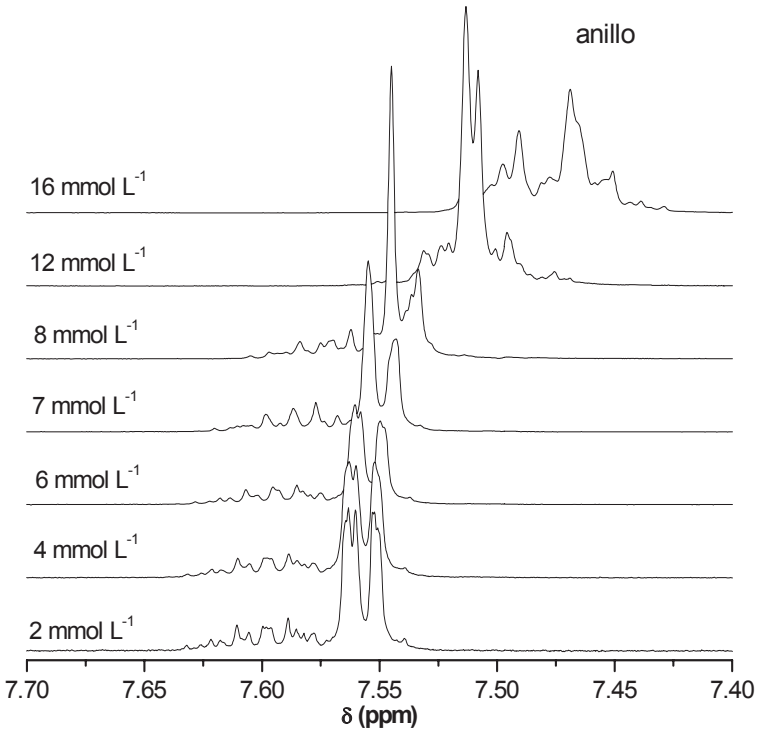
La regla empírica de Stauff-Klevens viene dada por la ecuación: $logCMC = A - Bn$, donde:
n es el número de átomos de carbonos de la cadena alifática
A y B son constantes

Anexo A4: Espectros RMN ^{1}H de disoluciones de CB12 a diferentes concentraciones

Aquí se presentan la fórmula estructural del surfactante CB12, el espectro RMN ^{1}H correspondiente a una disolución de este surfactante de 4 mmol L^{-1}, y la asignación de las señales.



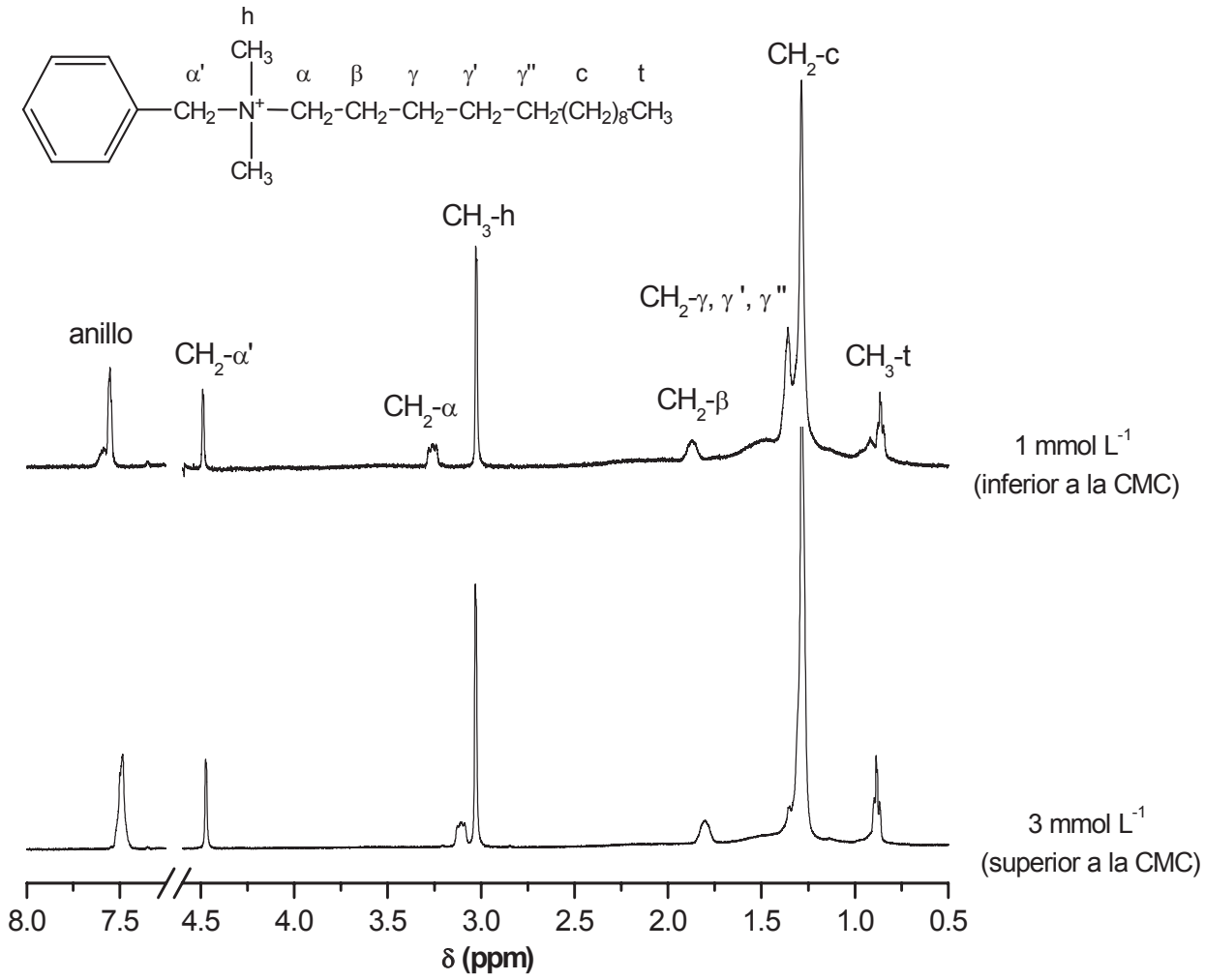




Partes seleccionadas de los espectros de RMN ^{1}H de disoluciones de CB12 a diferentes concentraciones, donde se observa el comportamiento de la señal CH_2-α' y las señales del anillo

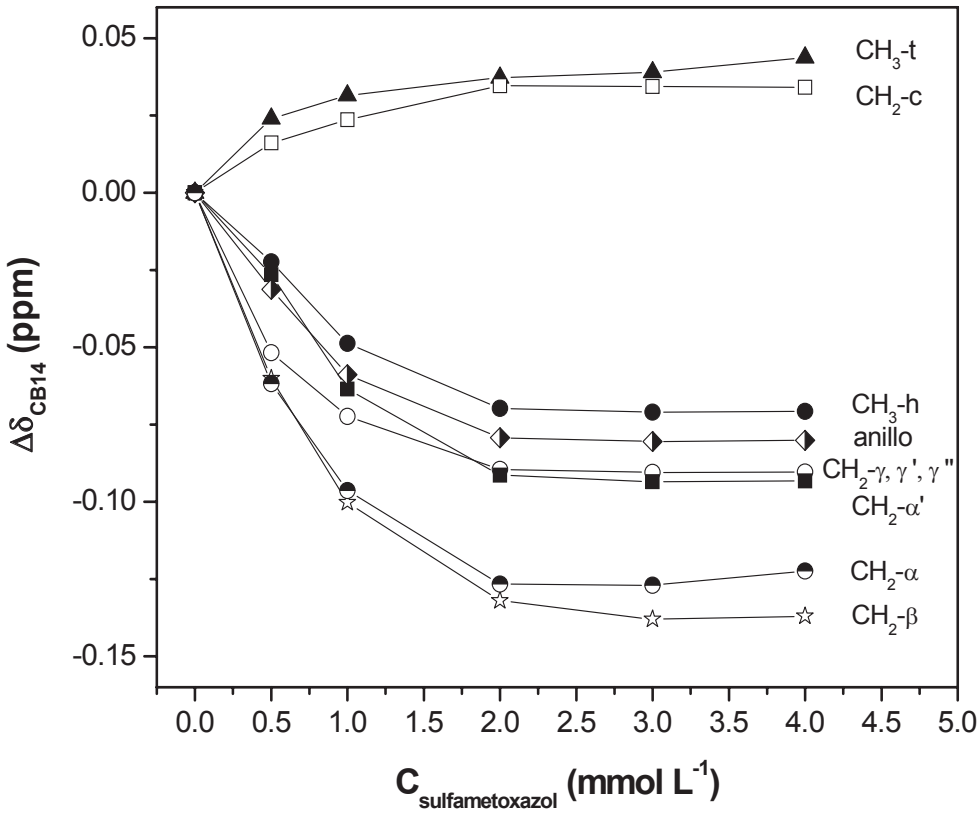
Anexo A5: Espectros RMN ^{1}H de disoluciones del surfactante CB14

En el gráfico se muestra la fórmula estructural del CB14, los espectros de RMN ^{1}H y la asignación de las señales para disoluciones de CB14 a concentraciones por debajo y por encima de su CMC (1.5 mmol L^{-1}).



Anexo A6: Desplazamientos químicos de los protones del CB14 en función de la concentración de sulfametoxazol

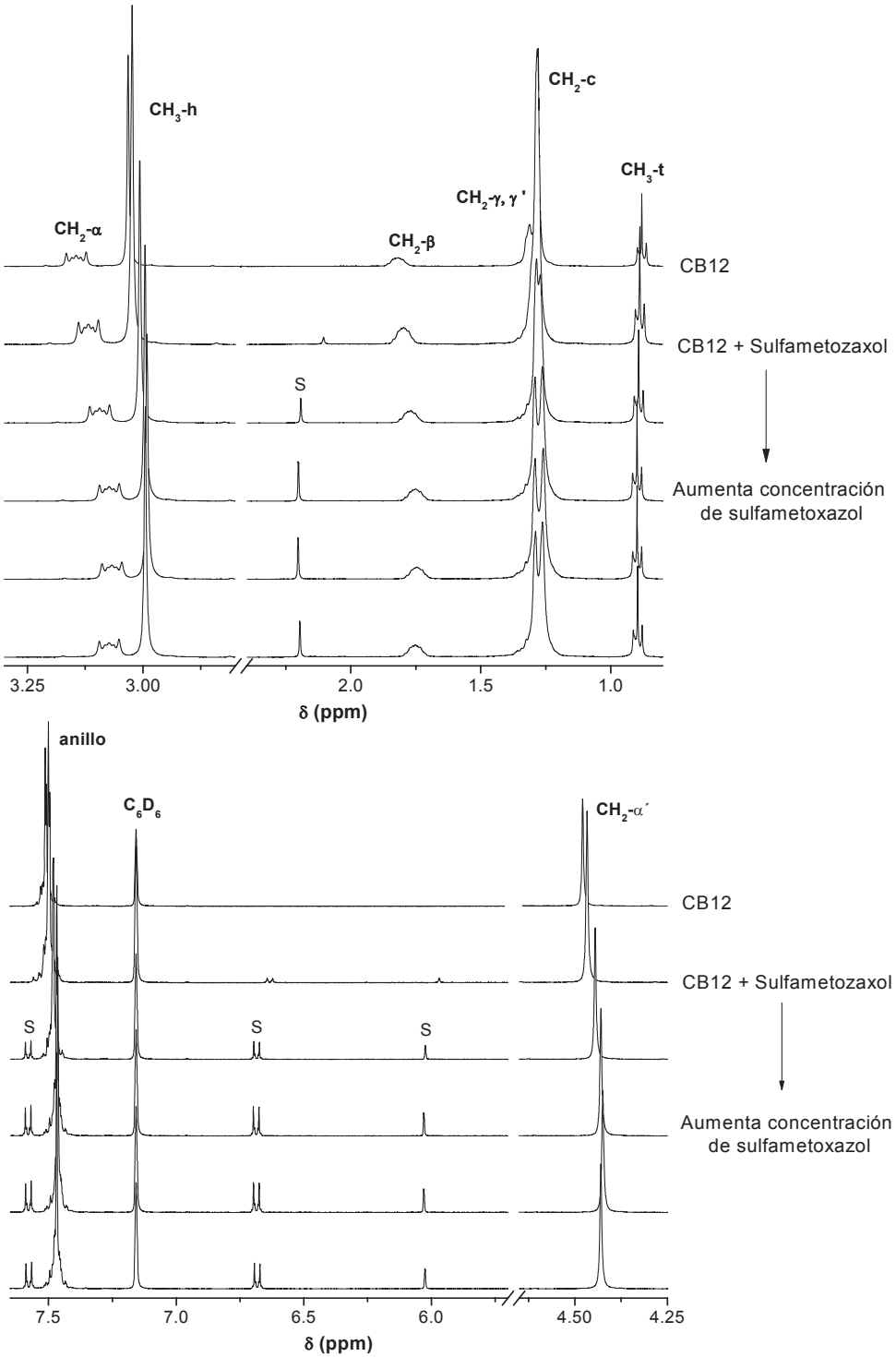
Las variaciones en los desplazamientos químicos (Δδ) de los protones del surfactante CB14 en función de la concentración de sulfametoxazol, se presentan en el siguiente gráfico.



Δδ es la diferencia entre el desplazamiento químico observado a una concentración dada de sulfametoxazol y el observado para el surfactante solo. El error en el desplazamiento químico es inferior al tamaño de los símbolos utilizados para los puntos experimentales.

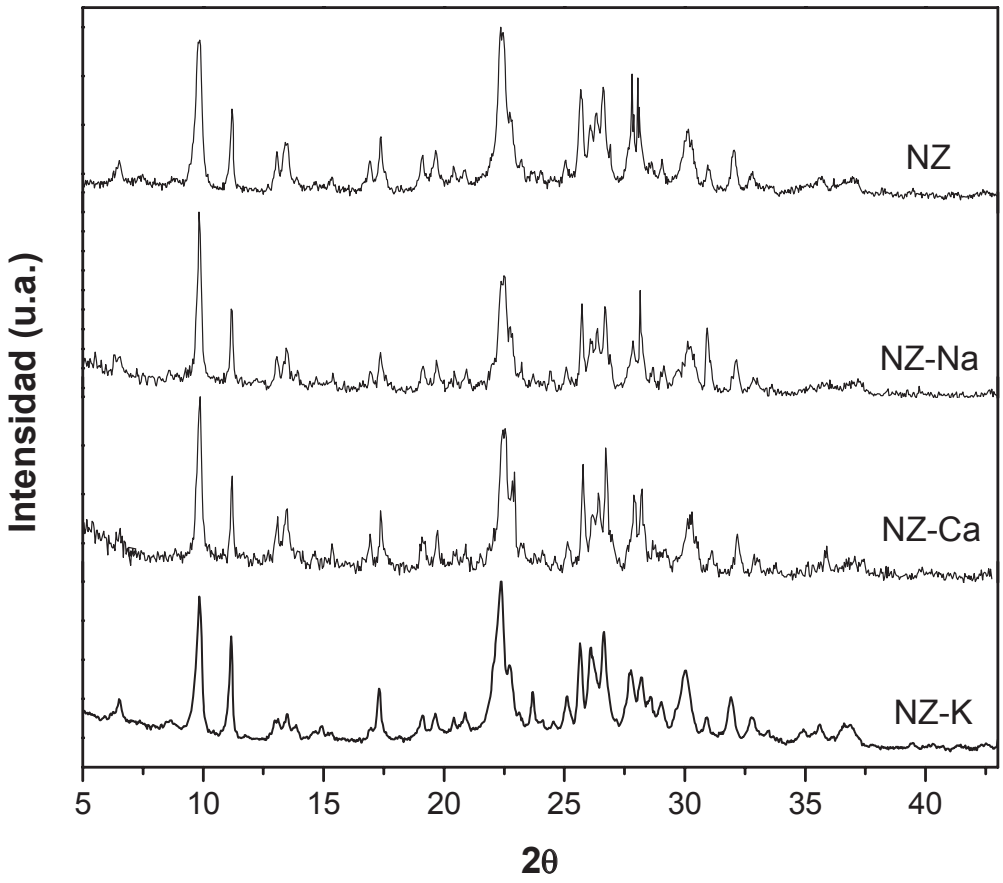
Anexo A7: Espectros de RMN ^{1}H de disoluciones mixtas de CB12 y sulfametoxazol

Los espectros de RMN ^{1}H presentados abajo corresponden a disoluciones a una concentración fija de CB12 de 12 mmol L^{-1} y diferentes concentraciones de sulfametoxazol (0.5, 1, 2, 3 y 4 mmol L^{-1}). Se observan variaciones en el desplazamiento químico de las señales del surfactante en presencia del sulfametoxazol, que depende de la concentración del fármaco en disolución.



Anexo A8: Patrones de difracción de rayos X de las muestras de NZ enriquecidas en los diferentes cationes

En el gráfico se presentan los difractogramas de NZ y las muestras de esta zeolita enriquecidas en los diferentes cationes. Si se comparan los patrones de difracción de las muestras pueden observarse variaciones en las intensidades relativas de los diferentes picos, las cuales están relacionadas con la naturaleza de los cationes de compensación presentes en cada caso [167].



Anexo A9: Contenidos de silicio y aluminio en NZ y en las muestras sometidas a tratamientos ácidos y básicos

Muestra	**% Si**	**% Al**	**% SiO_2**	**% Al_2O_3**
NZ	29.7	5.89	63.54	11.13
NZH-0.1-lav	30.76	5.52	65.80	10.43
NZH-0.5-lav	31.54	5.36	67.47	10.13
NZH-1-lav	31.64	5.4	67.69	10.20
NZOH-0.1-lav	29.52	6.02	63.15	11.37
NZOH-0.5-lav	28.93	5.94	61.89	11.22
NZOH-1-lav	29.3	5.94	62.68	11.22

Anexo A10: Listado de las publicaciones y participación en eventos de la autora, y proyectos de investigación, relacionados con la tesis

A10.1 Artículos publicados que avalan la tesis

1. **T. Farías**, L.C. de Ménorval, J. Zajac, A. Rivera, Solubilization of drugs by cationic surfactants micelles: Conductivity and ^{1}H NMR experiments, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 345 (2009) 51-57.
2. **T. Farías**, L.C. de Ménorval, J. Zajac, A. Rivera, Adsolubilization of drugs onto natural clinoptilolite modified by adsorption of cationic surfactants, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (2009), en prensa, doi:10.1016/j.colsurfb.2009.11.018.
3. **T. Farías**, LC. de Ménorval, J. Zajac, A. Rivera, Adsorption de Tensioactifs Cationiques et de Drogues sur des Zéolithes Naturelles type Clinoptilolite: Etudes Préliminaires (Resumen extendido), en libro de resúmenes del evento "15^{éme} Journée Chimie Grand Sud-Ouest", Montpellier, Francia, 2005.

A10.2 Manuscrito en preparación que avala la tesis

1. **T. Farías**, L.C. de Ménorval, J. Zajac, A. Rivera, Benzalkonium chloride and sulfamethoxazole adsorption onto natural clinoptilolite: effect of different parameters, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, a ser enviado.

A10.3 Artículos publicados relacionados con la tesis y el tema de trabajo

1. **T. Farías**, A.R. Ruiz-Salvador, L. Velazco, L.C. de Ménorval, A. Rivera, Preparation of natural zeolitic supports for potential biomedical applications, Mater. Chem. Phys. 118 (2009) 322-328.
2. A. Rivera, **T. Farías**, Clinoptilolite-surfactant composites as drug support: A new potential application, Microp. Mesop. Mat. 80 (2005) 337-346.
3. **T. Farías**, A.R. Ruiz-Salvador, A. Rivera, Interaction studies between drugs and a purified natural clinoptilolite, Microp. Mesop. Mat. 61 (2003) 117-125.
4. A. Rivera, **T. Farías**, L.C. de Ménorval, A.R. Ruiz-Salvador, Preliminary characterization of drugs support systems based on natural clinoptilolite, Microp. Mesop. Mat. 61 (2003) 249-259.

A10.4 Principales eventos científicos donde han sido presentados los resultados

1. VI Conferencia Nacional de Zeolitas y Materiales Microporosos, Cuba, 2003.
2. 15^{éme} Journée Chimie Grand Sud-Ouest, Francia, 2005.
3. Conference on Drug Development for the Third World, Italia, 2006.
4. First Internacional Conference on Multifuctional, Hybrid and Nanomaterials, Francia, 2009.
5. Conferencia Internacional: La Ciencia de los Materiales en la Era Nano, Cuba, 2009.

A10.5 Proyectos de investigación relacionados con la tesis y el tema

1. Proyecto Internacional de doctorado en co-tutela entre la Universidad de la Habana y el Polo Universitario de Montpellier (Universidad de Montpellier II), Francia (2004-2009). *Caracterización y Desarrollo de Materiales Porosos Tipo Zeolita Clinoptilolita con Potenciales Aplicaciones en la Industria Farmacéutica*, Jefe parte cubana: Dra. Aramis Rivera Denis, Jefe parte francesa: Dr. Louis Charles de Ménorval.
2. Proyecto del Programa Nacional de Ciencias Básicas (2009). *Soporte y liberación de fármacos empleando sólidos nanoporosos: estudios básicos*, Jefe: Dra. Aramis Rivera Denis.
3. Proyecto del Programa Nacional de Ciencias Básicas (2009). *Simulación computacional de sistemas híbridos zeolitas-moléculas adsorbidas para soporte y liberación controlada de fármacos*, Jefe Dra. Anabel Lam Barandela.
4. Proyecto Internacional TWAS (2008). *Development of new mesoporous materials with potential bio-pharmaceutical applications*, Jefe Dra. Aramis Rivera Denis.
5. Proyecto Internacional TWAS (2006). *Theoretical Simulations of drug-surfactant-zeolite systems*, Jefe Dra. Anabel Lam.
6. Proyecto de colaboración Franco-Cubana (2004). *Caracterización y Desarrollo de Zeolitas Naturales Como Soportes de Medicamentos*, Jefe Dr. Gerardo Rodríguez Fuentes.